

03062

20  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUT  
DE MEXICO**

**UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y DE  
POSGRADO DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES**

**EL EFECTO BILATERAL DE LOS TRASPLANTES  
DE SUBSTANCIA NEGRA FETAL DEMOSTRADO  
CON EL METODO DE AUTORADIOGRAFIA CON  
(14-C)-2- DESOXIGLUCOSA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MAESTRO EN INVESTIGACION  
BIOMEDICA BASICA  
P R E S E N T A :  
ANTONIO PAULINO ZAINOS ROSALES**

*Director de Tesis: Dr. René Drucker Colln*

MEXICO, D. F.

1992

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

### RESUMEN

#### I.- GANGLIOS BASALES Y ENFERMEDAD DE PARKINSON

- Breve descripción anatómica de los Ganglios Basales
- La enfermedad de Parkinson
- Modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson

#### II.- TRASPLANTES AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

- Introducción
- Terminología
- Historia
- La utilización de los trasplantes como herramienta terapéutica
- Posibles mecanismos de acción de los trasplantes
- Condiciones para la sobrevivencia de los trasplantes

#### III.- TRASPLANTES DE SUBSTANCIA NEGRA

- Introducción
- Estudios anatómicos
- Estudios electrofisiológicos
- Estudios bioquímicos
- Estudios conductuales

#### IV.- TRABAJO EXPERIMENTAL (ARTICULO ANEXO)

#### V.- DISCUSION

- El método de [14C]-2-Desoxiglucosa
- Conducta de giro
- Restricción de movimiento
- Diferencia de acuerdo a las dosis de apomorfina en los grupos no lesionados (SAL y APO)
- Grupo LES+SAL
- LCGU en el estriado
- LCGU en los núcleos eferentes del estriado
- LCGU en el tálamo
- LCGU en otras áreas cerebrales

#### VI.- CONCLUSIONES

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia de los trasplantes de substancia negra fetal en los núcleos eferentes del estriado (núcleo entopeduncular, substancia negra reticulada y globo pálido). Para ello se utilizó el método de autorradiografía con  $[14\text{ C}]-2\text{-Desoxiglucosa}$ . Ratas macho Wistar se lesionaron de manera unilateral con 6-hidroxi-dopamina (8 ug/4 ul) y la conducta de giro se evaluó con la administración intraperitoneal de apomorfina (0.25 mg/kg). Algunos animales recibieron un trasplante de substancia negra fetal o tejido no dopaminérgico y la conducta de giro se evaluó de nuevo en todos los animales cada 10 días durante 2 meses. Al final de este periodo, todas las ratas recibieron una administración intravenosa de  $[14\text{ C}]-2\text{-Desoxiglucosa}$  (10 uCi/100 g). Los animales se dividieron en los siguientes grupos: animales intactos que recibieron la administración intravenosa de salina (SAL) o apomorfina (APO) y animales lesionados (LES) que recibieron salina (LES+SAL), apomorfina (LES+APO), un trasplante de tejido no dopaminérgico y apomorfina (LES+APO+NDA) o un trasplante de substancia negra y apomorfina (LES+APO+SN).

Los resultados mostraron cambios asimétricos en la utilización local de glucosa cerebral (ULGC) en los núcleos entopeduncular y substancia negra reticulada para los grupos LES+APO Y LES+NDA; no se observaron estos cambios asimétricos para el globo pálido en estos grupos. Sin embargo, los animales del grupo LES+APO+SN disminuyeron esta asimetría en la substancia nigra reticulada. De manera inesperada, en este grupo se observó un incremento en ULGC en el estriado no lesionado y también un aumento bilateral en los núcleos del tálamo y la corteza frontoparietal.

Los cambios en ULGC que se reportan en esta tesis, reflejan la influencia de los trasplantes de substancia negra fetal más allá del lugar donde se colocan. Los datos se discuten sobre la posibilidad de que los trasplantes se integren o afecten los mecanismos relacionados con el control interhemisférico de ambos sistemas dopaminérgicos nigroestriatales.

**I.- LOS GANGLIOS BASALES Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON**

**Bueno es recordar  
las palabras viejas  
que han de volver a sonar.**

**Antonio Machado**

## BREVE DESCRIPCION ANATOMICA DE LOS GANGLIOS BASALES

En las primeras descripciones anatómicas el término ganglios basales se utilizó para designar a todos los núcleos subcorticales incluyendo al tálamo. En la actualidad no existe un acuerdo unánime de que estructuras deben ser incluidas en este concepto. Esto se debe en parte a que las clasificaciones que se realizan dependen del criterio y formación del autor. Para evitar confusiones, en esta tesis se aplicará el término ganglios basales a las estructuras subcorticales que se localizan en el telencéfalo (núcleo caudado, putamen y globo pálido), diencéfalo (núcleo subtalámico) y mesencéfalo (substancia negra).

El cuerpo estriado es el término que se utiliza para designar al núcleo caudado, putamen y globo pálido. A su vez el estriado o neocestriado está formado por el núcleo caudado y el putamen (Fig. I.1). En el cerebro de los primates el putamen recibe información de la corteza sensoriomotora mientras que el núcleo caudado se relaciona con áreas corticales llamadas corteza de asociación (Carpenter, 1984). Sin embargo, los datos anatómicos e histoquímicos apoyan el punto de vista de que el caudado y el putamen representan dos partes de una sola estructura (Heimer et al, 1985). En algunos mamíferos como la rata, el estriado es una estructura que no está separada por la cápsula interna.

En los primates, el globo pálido se divide en dos regiones: una porción externa o lateral y una interna o medial que están separadas por una lámina de fibras mielinizadas (Carpenter, 1984) (Fig. I. 1). En los roedores, el núcleo entopeduncular representa la estructura homóloga del globo pálido interno o

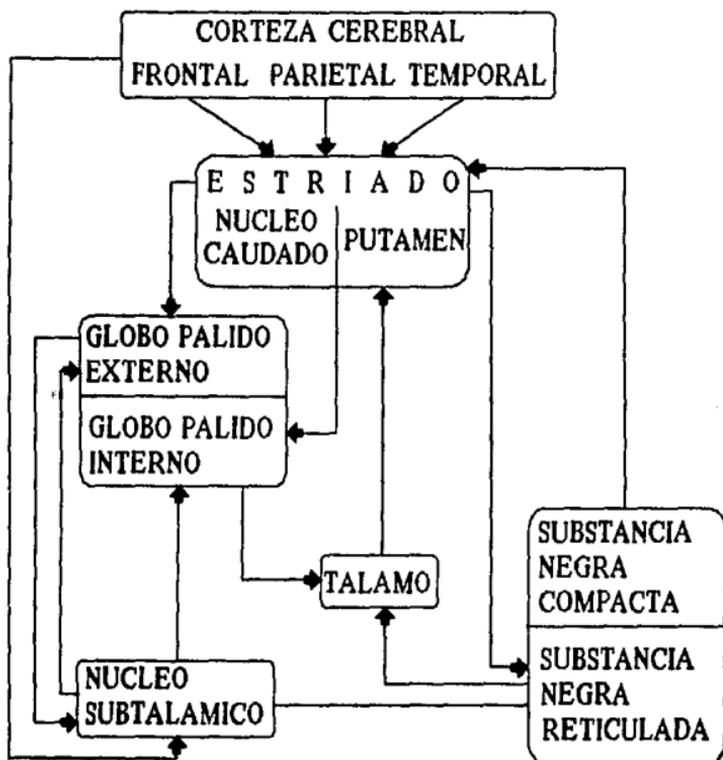


FIG. 1.1. ESQUEMA DE LAS PRINCIPALES CONEXIONES ANATÓMICAS AFERENTES Y EFERENTES DE LOS GANGLIOS BASALES, MÁS DETALLES EN EL TEXTO. NO SE ILUSTRAN LAS CONEXIONES TALAMO CORTICALES. ES IMPORTANTE SEÑALAR QUE LAS VÍAS EFERENTES DEL ESTRIADO SON EL GLOBO PÁLIDO INTERNO (NÚCLEO ENTOPEDUNCULAR EN ROEDORES), GLOBO PALIDO EXTERNO Y LA SUBSTANCIA NEGRA RETICULADA.

medial (Heimer et al, 1985). El nombre de este núcleo se debe a que las células que lo forman se encuentran embebidas en el pedúnculo cerebral.

El núcleo subtalámico se sitúa a lo largo del borde medial de la cápsula interna, en el diencéfalo ventral. La sustancia negra se localiza en el mesencéfalo, dorsal a los pedúnculos cerebrales. La sustancia negra se divide en dos: la sustancia negra reticulada (que desde un punto de vista citológico es similar al globo pálido) y la sustancia negra compacta (que contiene las células que dan origen al sistema dopaminérgico mesoestriatal A9) (Carpenter, 1984; Heimer et al, 1985) (Fig. I.1) En los mamíferos, incluyendo la rata, se ha identificado una porción lateral de la sustancia negra, pero la mayoría de los autores la consideran como parte de la sustancia negra reticulada (Heimer et al, 1985).

#### Conexiones anatómicas aferentes.

Las conexiones anatómicas aferentes que reciben los ganglios basales provienen en gran parte de la corteza cerebral; el estriado recibe proyecciones aferentes de todas las regiones de la neocorteza (Carpenter, 1984) (Fig I.1). La única otra estructura que recibe aferentes de la neocorteza es el núcleo subtalámico (Carpenter, 1984) (Fig.I.1). Otras áreas cerebrales que presentan fibras aferentes al estriado son: los núcleos centromediano y parafascicular del tálamo, los núcleos del rafe y la sustancia negra compacta (Carpenter, 1984) (Fig.I.1). Por otro lado, las fibras aferentes al globo pálido surgen del estriado y del núcleo subtalámico (Carpenter, 1984) mientras que la sustancia negra recibe fibras del estriado, del globo pálido,

del núcleo subtalámico, del núcleo dorsal del rafé y del núcleo pedúnculo pontino (Carpenter, 1984)(Fig.I.1).

#### Conexiones anatómicas eferentes.

En los roedores, el estriado tiene una salida a través de las conexiones anatómicas eferentes que establece con el globo pálido, el núcleo entopeduncular y la sustancia negra reticulada (Nagy et al, 1978; Carpenter, 1984)(Fig. I.1). A su vez el globo pálido manda fibras al núcleo subtalámico y a la sustancia negra, pero no al tálamo (Carter y Fibiger, 1978)(Fig.I.1). Las células del núcleo entopeduncular proyectan al núcleo ventromedial, ventral lateral, ventral anterior, parafascicular y centromediano del tálamo, al núcleo de la habenua lateral y al núcleo pedunculopontino tegmental (Carter y Fibiger et al, 1978; Scheel-Krueger, 1986). Estos núcleos eferentes del estriado (globo pálido, núcleo entopeduncular y sustancia negra reticulada) comparten una inervación gabaérgica proveniente de las células espinosas medianas del estriado (Nagy et al, 1978; Carpenter, 1984). Sin embargo, sólo el núcleo entopeduncular y la sustancia negra reticulada reciben fibras que contienen sustancia P y dinorfina, mientras que el globo pálido recibe una inervación encefalinérgica del estriado (Paxinos et al, 1984).

En los últimos años con la ayuda de las técnicas electrofisiológicas (Chevalier y Deniau, 1987) o de aquellas que permiten determinar la actividad metabólica (Sokoloff et al, 1977), se ha estudiado la influencia del estriado en sus núcleos eferentes. Con la utilización del método de autoradiografía con [14 C]-2-Desoxiglucosa, se ha determinado que la estimulación eléctrica unilateral del estriado incrementa la actividad

metabólica en el globo pálido, núcleo entopeduncular y sustancia negra reticulada, en el lado ipsilateral a la estimulación (Aiko et al, 1988); la aplicación intraestriatal unilateral de dopamina, en animales intactos, también produce un incremento ipsilateral en la actividad metabólica en estos núcleos (Brown y Wolfson, 1983). Estos trabajos sugieren que los núcleos eferentes del estriado pueden reflejar la actividad de las células estriatales.

#### LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson es quizás el trastorno neurodegenerativo más estudiado hasta la fecha. Aunque existen descripciones del temblor y la parálisis que se remontan a 2500 años antes de nuestra era, es en 1817 en Inglaterra cuando James Parkinson (médico, reformador social y geólogo aficionado) caracteriza la enfermedad que lleva su nombre y que él llama parálisis agitante. En la actualidad se desconoce el aspecto físico de este médico inglés, ya que no existe una pintura o retrato de él. Más de 100 años después, en 1951, W. Raab y W. Gigg reportan la presencia de una sustancia en altas concentraciones en el núcleo caudado del cerebro humano, que ellos llamaron "encefalina". En 1958 A. Carlsson identifica esta sustancia como dopamina y en 1960 H. Ehringer y O. Hornykiewicz descubren un decremento de este neurotransmisor en el estriado de pacientes con enfermedad de Parkinson.

En la actualidad la enfermedad de Parkinson de origen idiopático se considera como un desorden progresivo que afecta

aspectos motores, cognitivos y emocionales de la conducta, que se presenta con mayor frecuencia a partir de los 60 años (Jankovic, 1987; Fahn y Duffy et al, 1977). Los principales síntomas clínicos son el temblor en reposo, la rigidez, la lentitud para iniciar movimientos (bradicinesia) y la pérdida de los reflejos posturales. Otros síntomas se presentan en el cuadro 1.

Aunque desde hace tiempo se conoce que la disminución de dopamina en el estriado, es la alteración bioquímica más importante en la enfermedad de Parkinson, los estudios recientes demuestran que existen deficiencias en los sistemas dopaminérgicos mesolímbico y mesocortical, así como también en la concentraciones dopaminérgicas de la médula espinal (Hornykiewicz y Kish, 1986). Por otro lado se han identificado alteraciones en otros sistemas neuroquímicos que incluyen a serotonina, norepinefrina, sustancia P, GABA y neuropéptidos como met-enkefalina, leu-enkefalina, colicistoquinina, bombesina y neurotensina, en diferentes áreas cerebrales (Hornykiewicz y Kish, 1986; Hassan y Thakar, 1988).

No se conocen las causas que producen esta enfermedad. Factores como el envejecimiento natural y sustancias tóxicas ambientales aún no identificadas, han sido propuestos como posibles causas (Langston et al, 1987). Desde el descubrimiento de la carencia de dopamina en el estriado, se ha buscado un tratamiento que permita remplazar esta falta de dopamina. La L-DOPA se considera el medicamento más eficaz y fácilmente disponible para el tratamiento de esta enfermedad; sin embargo no es el agente óptimo ya que se requiere la administración de varias dosis altas durante el día, que producen efectos

## CUADRO 1.- SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

### PRINCIPALES SINTOMAS MOTORES

- Temblor en reposo
- Rigidez
- Bradicinesia
- Pérdida de reflejos posturales

### OTROS SINTOMAS MOTORES

- Hipomimia (cara de máscara)
- Desorden del habla (disartria hipocinética)
- Hipofonia
- Disfagia
- Sialorrea
- Dificultades respiratorias
- Arrastre de los pies al caminar, pasos cortos
- Micrografía
- Dificultad para voltearse en la cama
- Postura inclinada hacia adelante, escoliosis
- Dystonia, mioclonus, discinesia orofacial

colaterales (náuseas, vómito, anorexia, mal sabor de boca, hipotensión, alucinaciones y movimientos coreicos) (Fahn y Duffy, 1977). En tratamientos crónicos con L-DOPA, los pacientes presentan alteraciones cíclicas de la efectividad del medicamento (fenómeno ON-OFF) y discinecias (Fahn y Duffy, 1977). Por ello, se han buscado nuevos agentes y estrategias que permitan una mejor terapéutica. En la actualidad, el tratamiento de la enfermedad de Parkinson se ha enfocado hacia la utilización de fármacos que pudieran prevenir o retardar el proceso degenerativo de la enfermedad, como es el caso del deprenyl que es un inhibidor de la monoaminooxidasa B (Tetrud y Langston, 1989a) y por otro lado, se ha buscado una terapéutica restaurativa por medio de los trasplantes de tejido nervioso o endocrino, de la cual se hablará más adelante.

El hallazgo de que una deficiencia neuroquímica sea la responsable de un síndrome neurológico, llevó a los investigadores a la creación de modelos animales de esta enfermedad. Dos de los más importantes se describirán a continuación.

#### MODELOS EXPERIMENTALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

En 1954 se observó que la administración sistémica de reserpina en perros y monos, producía acinesia (Plummer et al, 1954). A partir de ese año, los investigadores han tratado de crear modelos animales que incorporen las alteraciones clínicas, neuropatológicas y neuroquímicas de la enfermedad de Parkinson y que permitan evaluar las posibles terapéuticas. Dos neurotoxinas

han sido importantes para la elaboración de estos modelos. la 6-hidroxi dopamina (6-OHDA) y la 1-metil-4-fenil, 1,2,5,6,-tetrahidropiridina (MPTP); ambas sustancias afectan de manera selectiva al sistema dopaminérgico nigroestriatal. Es importante señalar que la 6-OHDA no atravieza la barrera hematoencefálica, mientras que el MPTP se puede administrar por vía sistémica (Jonsson, 1983; Kopin y Markey et al, 1988). A partir del hallazgo de que la MPTP produce un síndrome similar a la enfermedad de Parkinson en sujetos humanos (Langston et al, 1983), se han desarrollado estudios en diferentes animales, especialmente en los primates, que han aportado información sobre el origen y desarrollo de esta enfermedad, así como también sobre la aplicación terapéutica de los trasplantes al cerebro (Kopin y Markey, 1988; Heikkila et al, 1989; Tetrud y Langston, 1989b). En el presente trabajo se utilizó el modelo de hemiparkinsonismo inducido con 6-OHDA en la rata, y por ello a continuación se describirán las características de este modelo.

Lesión unilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal con 6-OHDA. Modelo de hemiparkinsonismo.

Los primeros estudios demostraron que la ablación unilateral del neostriado, inducía a la rata a caminar en círculos (Anden et al, 1966). Este trastorno ha sido llamado conducta de giro, que se define como una alteración locomotora que induce al animal a desplazarse únicamente en círculos, sin un propósito definido (Pycock, 1980). En roedores, la conducta de giro se produce, como ya se mencionó, por la ablación unilateral del neostriado o por la lesión electrolítica de este núcleo (Pycock, 1980). Sin embargo, la utilización de sustancias

neurotóxicas, selectivas para para cierto tipo de células, ha permitido superar el problema del daño inespecífico producido por las técnicas ya mencionadas. La 6-OHDA ha sido la sustancia que más se ha empleado en este modelo de hemiparkinsonismo. La administración de esta neurotoxina en áreas de sistema nervioso central que contienen axones, terminales o somas noradrenérgicos o dopaminérgicos, induce una degeneración celular con poco daño a otros sistemas neuroquímicos; en particular, el sistema dopaminérgico nigroestriatal es sensible a la 6-OHDA (Ungerstedt, 1971). La administración bilateral de la 6-OHDA en la sustancia negra o en los axones del sistema dopaminérgico nigroestriatal, produce una desaparición de la histofluorescencia en el neostriado que se acompaña por un síndrome conductual caracterizado por acinesia, adipsia y afagia (Ungerstedt, 1971). El desarrollo de los síntomas se correlaciona con la extensión de la degeneración del sistema dopaminérgico nigroestriatal y se revierten por la administración de agonistas dopaminérgicos (Ljungberg y Ungerstedt, 1976).

La 6-OHDA es acumulada de manera selectiva por las células catecolaminérgicas, a través de un sistema de recaptura de alta afinidad que poseen estas células (Jonsson, 1983). Es importante señalar que este sistema de recaptura está presente en toda la membrana de la neurona y por ello la acción tóxica de la 6-OHDA puede empezar en cualquier parte de la célula nerviosa (Jonsson, 1983). Se ha demostrado que las terminales nerviosas axonales son más sensibles a la acción neurotóxica que los cuerpos celulares (Jonsson, 1983); sin embargo, los axones no mielinizados también

presentan esta característica (Moore, 1981). Los mecanismos de acción de la 6-OHDA no son claros. Algunos estudios sugieren que la toxicidad de la 6-OHDA esta relacionada con un proceso de autoxidación que involucra la formación de moléculas de peróxido de hidrógeno, superóxidos y iones hidroxilo (Jonsson, 1983; Hiekkila y Cohen, 1973); otras sustancias tóxicas como las quinonas también están presentes (Jonsson, 1983). Los estudios no han podido determinar la importancia de estas moléculas en el proceso de toxicidad producido por la 6-OHDA.

En 1968 Ungerstedt reportó por primera vez que la administración unilateral de 6-OHDA en el sistema dopaminérgico nigroestriatal de la rata, produce una disminución en la histofluorescencia del estriado y una alteración corporal que se caracteriza por una asimetría postural: la cabeza y la cola se desvían hacia el lado de la lesión. Esta alteración desaparece al poco tiempo y el animal presenta una postura corporal similar a la de un animal sin lesión; sin embargo, si al animal se le presenta un estímulo repentino (vgr. un piquete en la cola) o se le coloca en un ambiente nuevo o estresante, el animal presentará de nuevo la conducta de giro (Ungerstedt, 1971). Los estudios realizados en pacientes con enfermedad de Parkinson con síntomas unilaterales de temblor y rigidez (hemiparkinsonismo), demuestran que los sujetos presentan una tendencia significativa a dar vueltas hacia el lado que no presenta los síntomas (Bracha et al, 1987). Este hallazgo es similar a la asimetría corporal que se presenta en los roedores con lesión unilateral con 6-OHDA. Es importante señalar que los sujetos de este estudio fueron pacientes externos que no ejecutaron tareas motoras ni

recibieron fármacos que estimulan la transmisión dopaminérgica.

A pesar de la recuperación en la asimetría corporal, un estudio reciente demuestra que las ratas con este tipo de lesión unilateral, presentan una desviación de la estructura ósea hacia el lado de la lesión; esta alteración se correlaciona con la disminución de dopamina en el estriado lesionado (Herrera-Marschitz et al, 1990). Es importante mencionar que los pacientes con enfermedad de Parkinson presentan escoliosis (desviación de la columna vertebral) (Jankovic, 1987).

Por otro lado, los animales con este tipo de lesión no responden a los estímulos sensoriales (vgr. olfativos o somáticos) que se aplican en el lado contralateral a la lesión (Marshall et al, 1974; Bjorklund et al, 1980a). Esta condición ha sido llamada negligencia o inatención sensorial. Los estudios clínicos han demostrado que los pacientes reportan sensaciones de entumecimiento, hormigueo, dolor, comezón, frío y calor, en brazos y piernas así como también presentan alteraciones en la propiocepción en las manos y los brazos (Koeller, 1984; Schneider et al, 1987). Otros estudios demuestran que los pacientes tienen dificultades para identificar y discriminar olores (Doty et al, 1987). Estas alteraciones sensoriales no están asociadas a un daño en los nervios sensoriales periféricos (Koeller, 1984).

La administración local o sistémica de fármacos que estimulan la neurotransmisión dopaminérgica, incrementa la conducta de giro. De esta manera, cuando se administra un agonista directo (vgr. apomorfina) en ratas con previa lesión unilateral, los animales presentan una conducta de giro hacia el

lado que no esta lesionado (giro contralateral); si se administra un agonista indirecto (vgr. anfetamina) los animales presentan una conducta de giro en dirección del lado lesionado (giro ipsilateral) (Ungerstedt, 1971). Con base en estos resultados, la conducta de giro inducida con anfetamina permite evaluar el efecto de la liberación de la dopamina en el estriado intacto, mientras que la apomorfin produce una evaluación de la respuesta del neostriado a la pérdida de la inervación dopaminérgica.

En los primero reportes, la conducta de giro se relacionó con un incremento de la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos estriatales, producida por la desaparición de las fibras dopaminérgicas (Ungerstedt, 1971). Posteriormente se demostro que en animales con lesión unilateral con 6-OHDA , las células estriatales presentan un decremento es su actividad eléctrica cuando se administra por vía sistémica apomorfin a dosis (de 0.005 a 0.01 mg Kg) que no producen respuesta en animales sin lesión; esto representa un incremento de 10 a 40% en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos con respecto a los animales sin lesión (Schultz y Ungerstedt, 1978). Otros estudios han demostrado que esta supersensibilidad para la respuesta dopaminérgica está relacionada con un aumento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales en el lado lesionado, y no con cambios en la constante de disociación de estos receptores (Creese et al, 1977; Feuerstein et al, 1981). Los trabajos realizados en los últimos años, demuestran que la lesión unilateral con 6-OHDA induce un incremento en el número de receptores dopaminérgicos del tipo D2, (Marshall et al, 1989; Graham et al, 1990) mientras el efecto en los receptores del tipo

D1 no es claro; algunos resultados sugieren una disminución (Marshall et al, 1989), un aumento en el número de receptores (Dawson et al, 1991) o ningún efecto inducido por la lesión (Graham et al, 1990). Los estudios postmortem han demostrado que los pacientes con enfermedad de Parkinson que no han recibido tratamiento farmacológico, presentan un incremento en el número de receptores dopaminérgicos del tipo D2 en el núcleo caudado y el putamen (Hassan y Thakar, 1988); mientras que los receptores D1 se encuentran aumentados en número en el putamen (Hassan y Thakar, 1988). La administración crónica de L-DOPA parece inducir un decremento en la cantidad de ambos tipos de receptores dopaminérgicos (Hassan y Thakar, 1988).

A partir de las primeras descripciones, se ha considerado que la conducta de giro inducida por agonistas dopaminérgicos (directos o indirectos) es similar, ya que estos fármacos afectan las células estriatales que contienen receptores dopaminérgicos; la única diferencia es la dirección del giro. Sin embargo, los estudios recientes han demostrado que el número de giros inducidos por la administración de anfetamina no se correlaciona con el número de rotaciones producido por la apomorfina (Becker et al, 1990; Casas et al, 1988). En la conducta de giro inducida por apomorfina existe una asimetría en el uso de los miembros posteriores al momento de girar, que no se presenta con la administración de anfetamina (Ziegler y Szechtman, 1988); la anfetamina produce un desplazamiento cruzado de los miembros anteriores que no se observa por la administración de apomorfina (Cools et al, 1989); los estímulos

ambientales pueden invertir la dirección de la conducta de giro inducida por apomorfina, pero no por anfetamina (Ziegler y Szechtman, 1988). Estos resultados sugieren que los efectos de la anfetamina y la apomorfina pueden ser mediados por diferentes mecanismos, aún desconocidos, en el sistema nervioso central. Por ello hay que tener cuidado en la interpretación de los resultados cuando los efectos de nuevos fármacos o de los trasplantes se evalúan con la administración de apomorfina o anfetamina.

El uso de este modelo, a través de cientos de publicaciones ha favorecido el análisis de fármacos con posibles aplicaciones terapéuticas para la enfermedad de Parkinson; ha permitido conocer la participación del sistema dopaminérgico nigroestriatal en aspectos de locomoción, postura y sensoriomotores de la conducta en roedores. A partir de 1979, ha permitido evaluar los efectos de los trasplantes al cerebro, en particular de los trasplantes de sustancia negra fetal y de médula adrenal de los cuales se hablará en la siguiente sección.

## **II.- TRASPLANTES AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

**Pues nada hay oculto si no  
es para que sea manifestado;  
nada ha sucedido en secreto  
sino para que venga a ser  
descubierto.**

**San Marcos 4:22**

## INTRODUCCION

En la última década, la utilización de los trasplantes de tejido nervioso fetal ha permitido estudiar el desarrollo y la regeneración de las conexiones neuronales, así como también las relaciones estructura-función en el sistema nervioso central de los mamíferos. En humanos, los trasplantes se han propuesto como una posible terapéutica para las enfermedades degenerativas del sistema nervioso central. Los trabajos realizados en diferentes laboratorios del mundo demuestran que el tejido neural fetal que se trasplanta al sistema nervioso central, tiene capacidad para sobrevivir, se diferencia, establece conexiones morfológicas con el tejido que le rodea y tiene efectos funcionales que son benéficos para los animales con daño neurológico experimental o con deficiencia congénita (Bjorklund y Stenevi, 1985; Gash y Sladek, 1988; Dunnett y Bjorklund, 1987; Lindvall y Bjorklund, 1989; Dunnett y Richards, 1990; Bjorklund, 1991). En contraste a puntos de vista tradicionales (Ramón y Cajal, 1928) los resultados de estos experimentos, demuestran que el sistema nervioso central de los mamíferos, es capaz de incorporar tejido nervioso o endocrino externo, a sistemas neuronales establecidos y modificar de esta manera la conducta del animal que recibe el trasplante. Es importante señalar, que el estudio de los trasplantes al sistema nervioso central no forma una disciplina científica o un campo de estudio, sino que constituye una herramienta para comprender los mecanismos y alteraciones de este sistema.

## TERMINOLOGIA

Los trasplantes se clasifican de acuerdo a la relación genética entre el animal donador y el animal receptor (hospedero u hospedador). Cuando el donador y el hospedero son el mismo individuo los trasplantes son llamados autotrasplantes. Cuando el animal donador y el animal hospedero son individuos diferentes, pero son genéticamente idénticos se utilizan los términos sintrasplante o isotrasplante. Los trasplantes que se realizan entre diferentes individuos de la misma especie son llamados homotrasplantes. Si el animal donador y el animal hospedero son distintos genéticamente pero son de la misma especie, los trasplantes son llamados alotrasplantes. Cuando el donador y el hospedero pertenecen a especies diferentes se utiliza el término heterotrasplante. Xenotrasplante se utiliza para designar a los trasplantes entre especies de diferentes ordenes filogenéticos. En condiciones normales los homotrasplantes, alotrasplantes, heterotrasplantes y xenotrasplantes producen una respuesta de rechazo inmunológico en el animal hospedero, mientras que los autotrasplantes y sintrasplantes no presentan esta respuesta. Sin embargo, en el cuerpo existen lugares (como el sistema nervioso central) llamados sitios privilegiados en donde la respuesta de rechazo es mínima.

Los trasplantes también se clasifican de acuerdo a su localización. Un tejido que se toma de una región determinada del animal donador y se coloca en el mismo lugar en el cuerpo del animal hospedero se llama trasplante homotópico o ortotópico, mientras que un trasplante que se realiza a otra área diferente se denomina trasplante heterotópico.

## HISTORIA

Los primeros intentos para realizar trasplantes de tejido nervioso al sistema nervioso de los mamíferos, surgieron hace 100 años. Sin embargo, la posibilidad de utilizar el tejido transplantado para reparar un daño cerebral o inducir un cambio conductual, se considero durante más de 80 años con precaución y escepticismo por parte de algunos investigadores, o como una simple fantasía científica por otros. A continuación se mencionan algunos hechos importantes de la historia de los trasplantes, tanto de tejido nervioso como de tejido endocrino, al sistema nervioso de los mamíferos:

1890	W.G.Thompson	USA	Primer intento de transplantar tejido adulto del SNC al cerebro.
1898	J.Forssman	Suecia	Primer reporte de los efectos neurotróficos del tejido que se trasplanta.
1905	S. Saltykow	Suiza	Primer intento de transplantar tejido cortical neonatal al cerebro.
1907	G.del Conte	Italia	Primer intento de transplantar tejido embrionario al cerebro.
1909	W. Ranson	USA	Primer trasplante exitoso de ganglio espinal al cerebro.
1911	F. Tello	España	Primer trasplante exitoso de nervio periférico al cerebro.

1913 1914	G. D'Abundo R. Altobelli	Italia	Primeros intentos por trasplantar tejido nervioso adulto al cerebro de mamíferos adultos.
1917	E. Dunn	USA	Primer trasplante exitoso de tejido neonatal al cerebro.
1921	Y. Shirai	Japón	Primera demostración del cerebro como sitio inmunológicamente privilegiado.
1924	G. Faldino	Italia	Primer trasplante exitoso de tejido fetal a la cámara anterior del ojo
1930	R.M. May	Francia	Primer trasplante exitoso de tejido nervioso neonatal a la cámara anterior del ojo
1940	W.E. LeGros Clark	Inglaterra	Primer trasplante exitoso de tejido fetal al cerebro de neonatos.
1945	R. M. May	Francia	Primer co-trasplante exitoso de tejido nervioso neonato y nervio ciático en la cámara anterior del ojo.
1945	H. S. N. Greene	USA	Primer trasplante exitoso de tejido embrionario humano a la cámara anterior del ojo.
1957	B. Flerko J. Szentagotahi	Hungría	Primer trasplante intraventricular exitoso de tejido endocrino.

1963	R. Álvarez-Buylla	México	Primer trasplante de tejido endocrino al parénquima del sistema nervioso central (hipotálamo).
1971	G. D. Das J. Altman	USA	Primer trasplante exitoso de neuroblastos al cerebro de mamíferos en desarrollo.
1976	U. Stenevi A. Bjorklund N. Svengard	Suecia	Primer trasplante exitoso de células monoaminérgicas al cerebro adulto de mamíferos.

En 1979, se inició una nueva etapa cuando de manera independiente, dos grupos de investigación demostraron por primera vez que los trasplantes de tejido fetal pueden aliviar las alteraciones inducidas por un daño en el cerebro adulto de los mamíferos. Perlow et al (1979) demostraron que los trasplantes de tejido dopaminérgico fetal colocados en el ventrículo lateral, producían una disminución del 40%, en la conducta de giro inducida por apomorfina. Al mismo tiempo, Bjorklund y Stenevi (1979) encontraron que los trasplantes de tejido dopaminérgico fetal, colocados en una cavidad cortical por encima del estriado dorsal, podían compensar la conducta de giro inducida por anfetamina e incluso algunos animales invertían la dirección de la conducta de giro. Resultados similares se encontraron con la administración intraestriatal de células nigrales en suspensión en animales lesionados con 6-OHDA (Bjorklund et al 1980b; Dunnet et al, 1983). Estos resultados estimularon a otros investigadores para estudiar la posibilidad

de que otro tipo de tejido pudiera inducir recuperación. De esta manera se eligió a las células cromafines de la médula adrenal que producen y liberan catecolaminas. Los trasplantes de médula adrenal que se obtienen de animales adultos jóvenes y que se colocan en el ventrículo lateral de ratas con lesión unilateral de la vía nigroestriatal, inducen una reducción de la conducta de giro (40%) producida por la administración de apomorfina (Freed et al, 1981) o por la administración de anfetamina (52%) (Becker y Freed, 1988). Es importante señalar que la colocación del trasplante de médula adrenal en el parénquima del estriado no produce una disminución significativa de esta conducta motora, debido a la pobre sobrevivencia de las células cromafines (Freed, et al 1986). Sin embargo, si el factor de crecimiento neuronal se administra localmente, se observa un efecto opuesto (Stromberg et al, 1985). Otra posibilidad de obtener tejido donador esta relacionada con las líneas celulares en cultivo, que ofrecen la ventaja de su disponibilidad en cualquier momento. La más estudiada es la línea celular Feocromocitoma (PC 12) que se deriva de un tumor de la médula adrenal de la rata. La administración de estas células en el estriado de ratas con lesión unilateral con 6-OHDA, induce una disminución temporal (de 1 a 2 semanas) de la conducta de giro dependiente de la administración de apomorfina (Hefti et al, 1985).

A partir de 1980 se ha originado un rápido crecimiento de los estudios relacionados con los trasplantes al sistema nervioso central en muchas áreas de las neurociencias, el cual abarca tanto estudios básicos como clínicos. Gash y Sladek (1980) reportaron que el trasplante de células peptidérgicas

hipotalámicas, colocado en la eminencia media de ratas con una deficiencia congénita de vasopresina (ratas Brattlerboro), induce una disminución de la poliuria y la polidipsia. En un modelo experimental de la corea de Huntington, inducido por la administración intraestriatal de ácido kaínico o iboténico, los trasplantes de tejido fetal se integran a los sistemas neuronales del animal hospedero y favorecen la recuperación de alteraciones motoras y de aprendizaje (Isaccson et al, 1984; Sirinathshigji et al, 1988; Bjorklund et al, 1988). En un modelo animal de demencia (ratas jóvenes adultas con lesión en la fimbria-fornix, en el septum lateral o en los núcleos basales) los trasplantes de tejido fetal colinérgico (área de la banda septal-diagonal) inducen un mejoramiento en tareas de aprendizaje y memoria (Low et al, 1982; Dunnet et al, 1982; Bjorklund et al, 1988).

A pesar de estos resultados, la utilización de los trasplantes no siempre proporciona un efecto benéfico. El tejido fetal del hipocampo que se coloca en una cavidad en ratas con lesión unilateral de la fimbria-fornix o en el parénquima hipocampal, actúa como un "foco epiléptico" cuya actividad eléctrica se propaga a las áreas adyacentes y como consecuencia los animales presentan convulsiones (Buzaki et al, 1988; Buzaki et al, 1989). En la rata, la memoria espacial y la percepción olfativa son disminuidas por la extirpación del bulbo olfatorio (Amemori et al, 1989); estas deficiencias aumentan con la utilización de trasplantes de sustancia negra o de bulbo olfatorio (Amemori et al, 1989). La lesión de la corteza prefrontal induce un aumento en la actividad locomotora y

deficiencias en la ejecución de la alternancia espacial retardada (laberinto en T) y en la navegación espacial (prueba de Morris); estas alteraciones se incrementan en animales que reciben trasplantes de tejido fetal cortical (Dunnett et al, 1987). Estos resultados indican que los trasplantes pueden llegar a interferir e incluso impedir la recuperación de los animales. Los mecanismos que determinan si un trasplante de tejido nervioso fetal produce efectos benéficos o dañinos en el animal hospedero no se conocen.

Los estudios mencionados son una muestra pequeña de la gran cantidad de trabajos que han utilizado los trasplantes en diferentes áreas de las neurociencias. El lector interesado puede consultar los libros editados por Bjorklund y Stenevi (1985), Gash y Sladek (1988) y Dunnett y Richards (1990). Sin embargo, el interés principal de los investigadores se ha dirigido hacia el posible uso terapéutico de los trasplantes.

#### LA UTILIZACION DE LOS TRASPLANTES COMO HERRAMIENTA TERAPEUTICA

La carencia de un tratamiento médico efectivo así como la severidad de los síntomas de las enfermedades degenerativas del sistema nervioso central, han estimulado la posible aplicación terapéutica de los trasplantes. De esta manera, la enfermedad de Parkinson ha sido hasta el momento, el desorden neurodegenerativo que más se ha estudiado en modelos animales y en pacientes humanos.

Los resultados obtenidos con la utilización de trasplantes

de médula adrenal, alentaron a los investigadores para implementar una posible terapia para la enfermedad de Parkinson. El empleo de este tejido, evita el rechazo inmunológico y su disponibilidad se favorece ya que el mismo sujeto es el donador y el receptor y con ello se evita la utilización de tejido fetal humano. El primer intento por implementar esta terapéutica surgió en Suecia en 1982-1983. Es importante destacar que en aquel tiempo, aún no se había descrito los efectos neurotóxicos del MPTP, y por ello la información que se tenía con respecto a los trasplantes se originaba del modelo de hemiparkinsonismo con 6-OHDA en roedores. Los primeros dos pacientes humanos recibieron un trasplante autólogo (autotrasplante) de médula adrenal en el núcleo caudado derecho; el resultado fue un ligero mejoramiento en la rigidez y movimiento de los brazos que duro 2 meses, pero tiempo después los paciente no mostraron diferencias con respecto a su estado preoperativo (Backlund et al, 1985). A pesar de estos resultados, el mismo grupo de médicos suecos realizó en 1985 dos operaciones en las cuales los pacientes recibieron un trasplante autólogo de médula adrenal que se colocó en el putamen derecho (Lindvall et al, 1987). Se escogió este núcleo debido a que los pacientes con enfermedad de Parkinson presentan una mayor disminución de dopamina en el putamen que en el núcleo caudado (Kish et al, 1988). Uno de los pacientes presentó un mejoramiento transitorio en la ejecución de tareas motoras que no duró más de dos meses, mientras que el otro enfermo no mostro una mejoría significativa (Lindvall et al, 1987). Al mismo tiempo que este trabajo se realizaba, un grupo de investigadores mexicanos encabezados por Ignacio Madrazo y René Drucker-Colín realizaron

un autotrasplante de médula adrenal al núcleo caudado derecho que produjo una mejoría significativa de la rigidez, la acinesia y el temblor de los pacientes (Madrazo et al, 1987). Este efecto se observó a los pocos días después de la operación y se mantuvo a lo largo de 10 meses de observación (Madrazo et al, 1987). A partir de estos últimos resultados, el autotrasplante de médula adrenal se ha utilizado como terapéutica en poco más de 300 pacientes en Canada (Petruk et al, 1990), China (Jiao et al, 1988), Cuba (Molina, 1990), España (López-Lozano et al, 1990), Estados Unidos (Goetz et al, 1990; Penn et al, 1990; Lieberman et al, 1990) e Italia (Pezzoli et al, 1990). Sin embargo los resultados de este enfoque terapéutico, no han sido uniformes. El grupo mexicano (Madrazo et al, 1987) y el grupo chino (Jiao et al, 1988) han reportado una recuperación significativa y duradera en los síntomas de la enfermedad de Parkinson, mientras que otros grupos no han observado estos resultados (Goetz et al, 1990). Estas discrepancias han originado una serie de críticas metodológicas (Lewin, 1988), algunas de ellas sarcásticas (Landau, 1990) sobre esta terapéutica. Algunos autores afirman que la mejoría que se observa en los pacientes, no se debe a la actividad fisiológica del trasplante sino al daño producido por la intervención quirúrgica (Sladek y Shoulson, 1988; Landau, 1990).

Por otro lado, con el propósito de obtener mejores resultados terapéuticos, se ha empleado tejido fetal humano del mesencéfalo ventral (Madrazo et al, 1988; Freed et al, 1990; Lindvall et al, 1990). Poco más de 100 pacientes con enfermedad

de Parkinson han recibido este tratamiento. Sin embargo, los resultados tampoco son alentadores. En general, se ha observado una mejoría moderada de los síntomas motores y en ningún caso se ha reportado la desaparición de estos síntomas (Lindvall 1991), pese al que se ha demostrado que las células dopaminérgicas del tejido fetal humano, sobreviven en los pacientes y presentan una actividad metabólica elevada (Lindvall et al, 1990).

Las diferencias en la manera de evaluar los síntomas de los pacientes, así como en las técnicas quirúrgicas utilizadas por los grupos de investigación han hecho difícil evaluar los resultados obtenidos. Esto podría explicar las discrepancias que se han reportado. Por ello, en mayo de 1991 representantes de 25 grupos provenientes de 11 países europeos se reunieron en Francia para formar una red de información llamada NECTAR (Network of European CNS Transplantation and Restoration) que tendrá como uno de sus objetivos principales, unificar criterios en los protocolos de los estudios clínicos y preclínicos para poder comparar los resultados obtenidos.

Es un hecho que los mecanismos de los trasplantes de médula adrenal o sustancia negra al sistema nervioso central de los pacientes con enfermedad de Parkinson aún no se conocen. Muchas preguntas básicas (vgr. qué cantidad de tejido se debe de trasplantar?) aún no tienen respuesta. Esta situación refleja la precipitación con que se han utilizado los trasplantes como herramienta terapéutica. De esta manera, surge la necesidad de realizar más estudios preclínicos (como el que se presenta en esta tesis) con los modelos animales de las enfermedades degenerativas del sistema nervioso. Algunos autores consideran

que debido a las características patológicas de la enfermedad de Parkinson (lesiones restringidas y bien definidas desde un punto de vista histológico), los resultados obtenidos con los trasplantes de médula adrenal o sustancia negra ofrecerán o no en el futuro, alternativas terapéuticas para otros trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer o la corea de Huntington (Quinn et al, 1989).

#### POSIBLES MECANISMOS DE ACCION DE LOS TRASPLANTES.

Los mecanismos por los cuales los trasplantes al sistema nervioso central ejercen sus efectos no son conocidos. Es obvio que no puede existir un mecanismo común, debido a la variedad de tejidos que se emplean y a la capacidad que tienen los elementos celulares para interactuar con el tejido hospedero. A la fecha se han descrito los siguientes mecanismos para describir las relaciones trasplante-hospedero:

1.- Mecanismos no específicos o negativos, producidos por la implantación quirúrgica. Dentro de esta clasificación se incluye el incremento en el volumen del trasplante, la deformación ventricular y las alteraciones en la barrera hematoencefálica.

2.- Sustancias tróficas. Las células del trasplante pueden elaborar y secretar moléculas tróficas, que permitirían evitar el daño de las células del hospedero inducido por una lesión o promoverían la regeneración de los procesos neuronales (Bjoklund et al, 1987). Por otro lado, se ha demostrado que un daño al parénquima cerebral del animal hospedero provoca en el área

afectada la aparición de sustancias tróficas que favorecen el desarrollo del trasplante (Nieto-Sampedro et al, 1983; Cotman et al, 1985). La especificidad de estos mecanismos puede regularse por receptores especializados de las células del hospedero o del trasplante (Gage y Fisher, 1991).

3.- Liberación de neurotransmisores u hormonas. Las células del trasplante pueden elaborar y secretar estas sustancias, para reemplazar su carencia que se provoca por una lesión (Bjorklund et al, 1987). Como en el caso anterior, la especificidad puede determinarse por cierto tipo de receptores y la regulación de la concentración de las sustancias puede influirse por el número de células que se trasplantan y la distancia del trasplante al sitio blanco (Gage y Fisher, 1991).

4.- Reinervación del tejido hospedero por el trasplante. Las células trasplantadas pueden actuar como neuronas funcionales por medio de los contactos sinápticos que establecen con las células del tejido hospedero (Bjorklund et al, 1987); sin embargo no todos estos contactos pueden ser funcionales o estar dirigidos al sitio adecuado (Gage y Fisher, 1991). Esta reinervación se observa en regiones previamente denervadas, como es el caso del estriado después de la administración de 6-OHDA (Freund et al, 1985; Mahalik et al, 1985).

5.- Establecimiento de conexiones específicas entre el trasplante y el tejido hospedero. La integración anatómica de los trasplantes es mayor en los animales hospederos en desarrollo, ya que las neuronas del trasplante son capaces de competir con los elementos neuronales del tejido hospedero, en el establecimiento de conexiones aferentes y eferentes (Bjorklund et

al, 1987). En contraste, los animales hospederos adultos presentan pocas conexiones aferentes y eferentes del trasplante (Bjorklund et al, 1987).

6.- Puentes neuronales. Las células de los trasplantes pueden actuar como "guías" que permitan la proliferación y conducción de los procesos de una área dañada a un sitio distal blanco. Se ha observado que la colocación de trasplantes del septum, en animales con una cavidad que interrumpe la fimbria-fornix, favorece la reinervación del hipocampo por parte de las células del septum (Gage y Buzaky, 1989).

#### CONDICIONES DE SOBREVIVENCIA PARA EL TRASPLANTE

Los trabajos realizados con trasplantes de tejido fetal han permitido identificar una serie de condiciones que son importantes para que el tejido trasplantado sobreviva y se desarrolle.

##### Edad.

Los trabajos experimentales han demostrado que el tejido fetal del sistema nervioso central sólo sobrevive al proceso de trasplante al cerebro de un animal adulto, si es elegido en un tiempo específico durante el desarrollo embrionario; esta es una condición diferente a la que presenta el tejido del sistema nervioso periférico que puede sobrevivir y desarrollarse si es elegido de animales donadores adultos (Dunnett y Bjorklund, 1987). Para cada población de células nerviosas, este tiempo específico parece relacionarse con el final de la mitosis, que corresponde a un estado en que el fenotipo ya está determinado y

el crecimiento de neuronas es máximo (Seiger, 1985). Con respecto a los trasplantes de sustancia negra fetal, los estudios han demostrado que la edad adecuada para utilizar este tejido es de 15 a 17 días de gestación, ya sea con la técnica de células disociadas o utilizando un bloque de tejido (Bjorklund et al, 1980b; Simonds y Freed, 1990). El empleo de tejido fetal con un desarrollo más tardío (19 días), induce poca recuperación en animales con lesión unilateral con 6-OHDA (Simonds y Freed, 1990). Por otro lado, la edad del animal hospedador no parece influir el desarrollo del tejido fetal que se trasplanta. Se ha demostrado que la sobrevivencia de las células, el volumen del trasplante y las características histológicas del tejido fetal de la sustancia negra o el septum, no presentan diferencias en ratas viejas (21-23 meses de edad) con respecto a ratas jóvenes (10-12 semanas de edad) (Gage et al, 1983a; Gage et al, 1983b; Gage et al, 1984). La única diferencia que se ha encontrado es que en los animales viejos, el crecimiento de fibras que se originan en el trasplante es inferior al que se observa en animales jóvenes (Gage et al, 1983a). A pesar de estos resultados, otros estudios muestran que la edad del animal hospedador puede influir en el desarrollo del trasplante. El tejido fetal de la corteza cerebral, hipocampo, cerebelo y septum muestra deterioro (gliosis y disminución en el tamaño) en animales viejos (16-17 meses), pero no en animales jóvenes (1.5-3 meses) cuando el tejido se coloca en la cámara anterior del ojo (Eriksdotter-Nilsson y Olson, 1989).

#### Substancias tróficas.

La sobrevivencia del trasplante depende entre otros factores,

de la capacidad del tejido embrionario para resistir periodos prolongados de anoxia y de la presencia de sustancias que estimulan el desarrollo y la sobrevivencia de las células nerviosas (Cotman et al, 1985; Dunnnett y Bjorklund, 1987). Los estudios han demostrado que el daño mecánico o químico en el parénquima cerebral de animales neonatos o adultos, induce en la región afectada, la acumulación de sustancias con propiedades tróficas en células en cultivo del sistema nervioso central o periférico (Manthorpe et al, 1983; Nieto-Sampedro, 1983; Cotman et al, 1985). La actividad trófica del área dañada comienza a incrementarse a partir de 6-7 días después de la lesión, para posteriormente decaer (Cotman et al, 1985). Esta actividad trófica no se presenta por el daño de fibras mielinizadas (vgr. cuerpo calloso) y disminuye con la distancia al lugar dañado (Nieto-Sampedro et al, 1983). Estos resultados han permitido estudiar la influencia de la actividad tróficas sobre los trasplantes. De esta manera, se ha demostrado que las sustancias tróficas parecen favorecer el desarrollo del tejido fetal que se trasplanta a una cavidad previamente hecha (7-8 días) (Cotman, et al, 1985). Este periodo coincide con aquel en el que se observa una mayor actividad trófica. Por otro lado, se ha observado que el trasplante de elementos no neuronales (vgr. astrocitos purificados o Gelfoam obtenido de zonas dañadas en el cerebro de un animal) a la corteza frontal lesionada, inducen la recuperación en una tarea de aprendizaje (alternación reforzada) similar a la que se observa por un trasplante neural homotópico (Cotman y Kesslak, 1988). Estos últimos resultados sugieren que

los efectos fisiológicos de los trasplantes no pueden ser atribuidos exclusivamente a los elementos neurales del tejido fetal. En los últimos años se ha tratado de identificar que factores tróficos están involucrados en la recuperación de una deficiencia. En el modelo de hemiparkinsonismo con 6-OHDA, la administración intraestriatal del factor de crecimiento nervioso (NGF) en animales con trasplante de médula adrenal, produce un mayor decremento en la conducta de giro, que los animales que sólo recibieron un trasplante de médula adrenal; la administración única de NGF no induce ningún efecto (Stromberg et al, 1985a; Pezolli et al, 1988). La administración intraventricular del factor de crecimiento epidérmico (epidermal growth factor) favorece la sobrevivencia y la reinervación del estriado por parte de las células de la sustancia negra compacta cuyos axones se han cortado previamente por una lesión mecánica (Pezolli et al, 1991). Por otro lado, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDGF) aumenta el tiempo de sobrevivencia de células fetales dopaminérgicas en cultivo y las protege de los efectos tóxicos del MPTP (Hyman et al, 1991).

#### Sitio de trasplante.

El sitio de trasplante debe estar vascularizado de manera abundante, para favorecer la incorporación rápida del tejido que se transplanta al animal hospedador (Stenevi et al, 1976). La piamadre en la fisura corooidal, los plexos coroideos en los ventrículos cerebrales o el iris en la cámara anterior del ojo, son considerados sitios naturales que cumplen esta condición. Stenevi et al, (1976) desarrollaron una técnica que consiste en la formación artificial de lechos vasculares por medio de

cavidades en el parénquima cerebral del animal hospedador, que permiten la sobrevivencia del trasplante. Por otro lado, el sistema ventricular del sistema nervioso central proporciona un espacio en donde el trasplante se coloca, sin dañar el parénquima cerebral y puede actuar como un medio de transporte para las sustancias neuroactivas que favorezcan la sobrevivencia del tejido (Freed, 1985). Por último, las suspensiones de células disociadas pueden sobrevivir cuando se colocan en cualquier sitio del parénquima cerebral (Bjorklund and Stenevi, 1979; Bjorklund et al, 1980b; Bjorklund et al, 1983); incluso se ha demostrado que el sistema ventricular es un sitio adecuado para el desarrollo de las células disociadas (Nishino et al, 1986b).

#### Factores inmunológicos.

Por mucho tiempo se ha considerado al cerebro como un sitio inmunológicamente privilegiado; esto significa que es una región en donde la probabilidad de rechazar un trasplante es menor si se compara con otras regiones del cuerpo del hospedero (vgr. sitios subcutáneos) (Baker y Billingham, 1977). Este privilegio inmunológico se debe a la acción combinada de varios factores como la existencia de la barrera hematoencefálica, la ausencia de leucocitos dendríticos (células presentadoras de antígenos) en el sistema nervioso central y la reducida expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad en las células del trasplante (Sloan et al, 1991). Sin embargo, esta condición no siempre se cumple, ya que existe un rechazo cuando el tejido que se transplanta y el animal hospedero tienen diferencias en sus

características de histocompatibilidad (Lund et al, 1989). La utilización de fármacos inmunosupresores (como la ciclosporina A) atenúa el proceso de rechazo, favoreciendo con ello el desarrollo y diferenciación de los xenotrasplantes (Brundin et al, 1985; Lund et al, 1989).

### **III.- TRASPLANTES DOPAMINERGICOS DE SUBSTANCIA NEGRA FETAL**

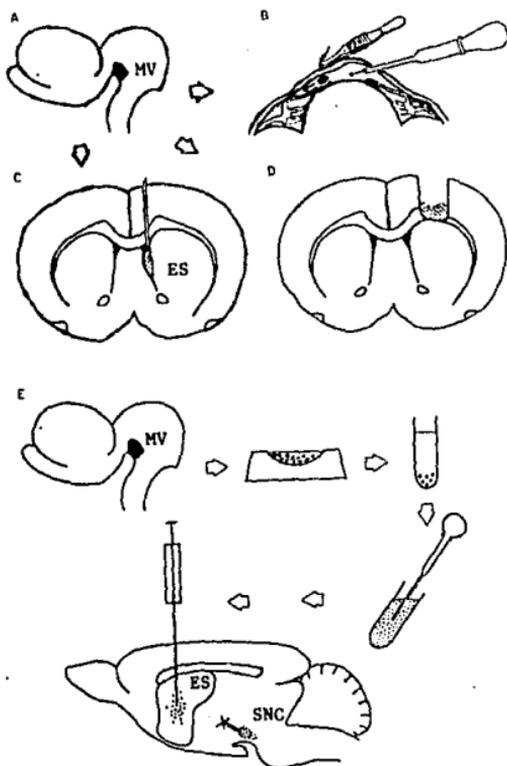
**En el cerebro adulto, las  
vias nerviosas son fijas e  
inmutables; todo puede morir,  
nada puede regenerarse.**

**Santiago Ramón y Cajal.**

## INTRODUCCION

La mayor parte de los estudios con trasplantes de tejido fetal al cerebro adulto, se han realizado en animales con lesiones de sistemas neuroanatómicos específicos. Unos de los sistemas que más atención ha recibido por parte de los investigadores, es el sistema dopaminérgico mesoestriatal. Las razones de ello han sido la selectividad para destruir este sistema con neurotoxinas (6-OHDA o MPTP), la secuela conductual inducida por la lesión que es simple de evaluar y el conocimiento anatómico que se dispone de este sistema en roedores. Estas características han permitido la evaluación de los trasplantes que contienen células dopaminérgicas. En realidad, estas células provienen de la sustancia negra compacta y del área ventral tegmental, es decir del mesencéfalo ventral; es imposible separar estos dos núcleos en el momento de extraer el tejido fetal. La mayoría de los autores prefiere llamar a este tejido trasplantes de sustancia negra y por ello esta denominación se empleará a lo largo de esta tesis.

Cuatro técnicas diferentes se han utilizado para trasplantar tejido fetal de la sustancia negra al sistema nervioso del animal hospedero (Fig. III. 1). La primera técnica que se desarrolló consiste en utilizar la cámara anterior del ojo como sitio de trasplante (Olson et al, 1979) (Fig. III. 1). Esta técnica intraocular no permite conocer de manera precisa las relaciones anatómicas y fisiológicas entre las células del trasplante y el tejido del animal hospedero. Otra técnica consiste en hacer una cavidad donde se coloca el trasplante y la cual permite que éste tenga contacto directo con la superficie



**FIG. III. 1. TÉCNICAS DE IMPLANTACIÓN DE LOS TRASPLANTES DE SUBSTANCIA NEGRA FETAL EN LA RATA. UNA DISECCIÓN DEL MESENCÉFALO VENTRAL PERMITE OBTENER EL TEJIDO QUE SE TRASPLANTA (A). ESTE TEJIDO SE COLOCA EN EL ANIMAL HOSPEDERO COMO UN TRASPLANTE EN BLOQUE EN LA CÁMARA ANTERIOR DEL OJO (B), EN EL VENTRÍCULO LATERAL (C) O EN UNA CAVIDAD (D). OTRA TÉCNICA PERMITE LA UTILIZACIÓN DE CÉLULAS DISOCIADAS (E) QUE PUEDEN IMPLANTARSE EN CUALQUIER REGIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO.**  
 MV = MESENCÉFALO VENTRAL  
 ES = ESTRIADO  
 SNC = SUBSTANCIA NEGRA COMPACTA

dorsal o lateral del estriado (Stenevi et al, 1976) (Fig. III. 1). Esta cavidad se prepara con anticipación a la colocación del trasplante (3-6 semanas); de lo contrario éste no sobrevivirá (Stenevi et al, 1976). Otra técnica consiste en colocar el tejido fetal en el ventrículo lateral, en contacto con el líquido cefalorraquídeo (Perlow et al, 1979; Freed, 1985) (Fig. III. 1). Estas dos técnicas permiten la utilización del tejido fetal en bloque; esto constituye una limitación ya que el tejido no puede ser colocado en áreas del parénquima cerebral. Sin embargo, las células del tejido fetal pueden disociarse al ser incubadas con tripsina y se pueden administrar en suspensión ( 2-5 ul) en cualquier región del sistema nervioso central (Bjorklund et al, 1983; Schmidt et al, 1981) (Fig. III. 1).

#### ESTUDIOS ANATOMICOS

Los primeros estudios de trasplantes de sustancia negra fetal, utilizaron la técnica de histofluorescencia para demostrar la inervación al estriado denervado (Bjorklund y Stenevi, 1979; Perlow et al, 1979; Bjorklund et al, 1980a; Freed et al, 1980). Las células dopaminérgicas en los trasplantes de tejido sólido (en bloque), se diferencian y forman una distribución en una sola capa, con procesos que se extienden perpendicularmente con respecto a ella (Bjorklund et al, 1980a). Esta organización es similar a la que se observa en la sustancia negra compacta. Los estudios de microscopía electrónica muestran que las células de los trasplantes de sustancia negra presentan características similares (organélos citoplasmáticos y núcleos redondos no

densos) a las que se observan en la sustancia negra compacta de animales intactos (Nishino et al, 1986a). El crecimiento de las fibras que surgen de estos trasplantes puede llegar hasta 2 mm de penetración en el estriado denervado (Bjorklund et al, 1980a; Freed et al, 1980; Freed, 1983), pero es limitado en áreas que no reciben inervación dopaminérgica, como la corteza parietal (Bjorklund et al, 1983). En el caso de las células en suspensión inyectadas en el parénquima del estriado denervado, éstas se agrupan en el sitio de inyección o a lo largo del tracto de la cánula, aunque algunas de ellas se desplazan de estos dos lugares. Los estudios que han utilizado inmunocitoquímica para la tirosina hidroxilasa, confirman el crecimiento de fibras (Stromberg et al, 1985b) y han identificado terminales sinápticas que terminan en las células estriatales y que se originan de fibras provenientes del trasplante (Mahalik et al, 1985) (Fig. III. 2). Con la utilización de la microscopía electrónica, se ha observado que los procesos que se originan del trasplante, forman sinapsis en las neuronas espinosas medias del estriado, que proyectan a la sustancia negra (Freund et al, 1985) (Fig. III. 3). Estos trabajos sugieren la incorporación del trasplante a los circuitos neuronales estriatales (Fig. III. 3). Por otro lado, las fibras que se originan de los trasplantes, forman patrones de histofluorescencia, similares a los que se presentan en el sistema dopaminérgico nigroestriatal intacto (Bjorklund et al, 1980a) y de acuerdo a criterios morfológicos, la organización dendrítica presente en los trasplantes es similar a la que se observa en la sustancia negra de animales sin lesión (Mahalik et al, 1985). Una lesión cortical producida por aspiración, induce

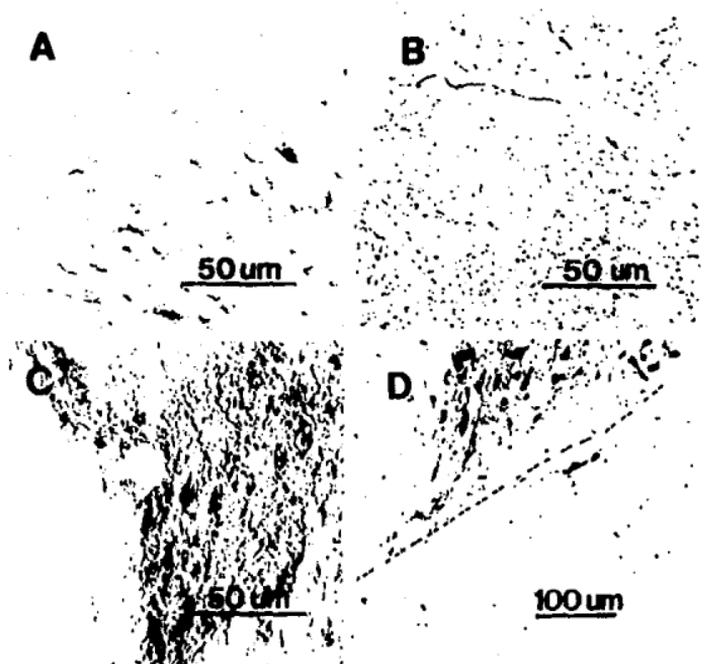


FIG. III. 2. REINERVIACIÓN DEL ESTRIADO DENERVADO POR PARTE DE LOS TRASPLANTES DE SUBSTANCIA NEGRA. EN ESTE ESTUDIO SE UTILIZÓ LA INMUNOREACTIVIDAD A LA TIROXINA HIDROXILASA PARA IDENTIFICAR LOS PROCESOS QUE SE ORIGINAN EN EL TRASPLANTE.

A.- ESTRIADO VENTRAL A UNA LESIÓN IPSILATERAL CON 6-OHDA, NO SE OBSERVARON FIBRAS.

B.- ESTRIADO DORSAL IPSILATERAL A UNA LESIÓN CON 6-OHDA Y PRÓXIMO A UN TRASPLANTE; SE OBSERVARON PROCESOS PROVENIENTES DE LAS CÉLULAS DEL TRASPLANTE.

C.- ESTRIADO CONTRALATERAL A LA LESIÓN CON 6-OHDA.

D.- MICROGRAFÍA DE BAJA RESOLUCIÓN QUE ILUSTRRA LA RELACIÓN ENTRE EL TRASPLANTE (PARTE SUPERIOR) Y EL ESTRIADO DORSOMEDIAL DENERVADO (PARTE INFERIOR), TOMADO DE MAHALIK ET AL. 1985.

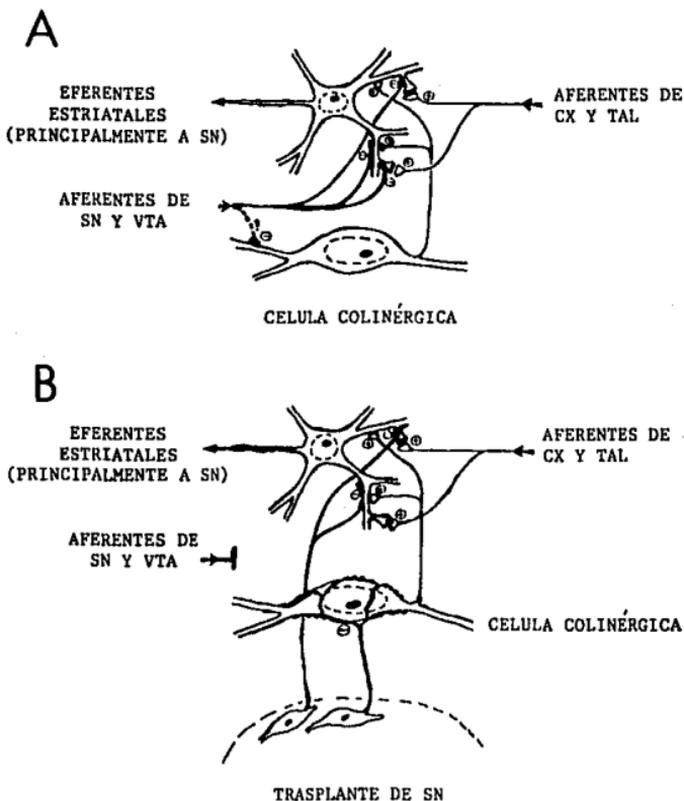


FIG. III.3  
CONEXIONES SINÁPTICAS EN EL ESTRIADO

- A.** ANIMALES NORMALES. LAS NEURONAS EFERENTES ESTRIATALES RECIBEN CONEXIONES DE LA CORTEZA Y EL TÁLAMO. ESTA ENTRADA ES INFLUENCIADA POR LAS PROYECCIONES PROVENIENTES DE LA SUBSTANCIA NEGRA (SN) Y EL ÁREA VENTRAL TEGMENTAL (VTA) QUE TAMBIÉN TERMINAN EN LAS CÉLULAS EFERENTES ESTRIATALES. LAS CONEXIONES DE SUBSTANCIA NEGRA Y EL ÁREA VENTRAL TEGMENTAL SOBRE LAS CÉLULAS COLINÉRGICAS ESTRIATALES NO ESTÁN BIEN DEFINIDAS.
- B.** ANIMALES LESIONADOS CON 6-OHDA Y CON TRASPLANTE DE SUBSTANCIA NEGRA. DESPUÉS DE LA LESIÓN, LAS NEURONAS EFERENTES ESTRIATALES PIERDEN LA INFLUENCIA DE SN y VTA. LA UTILIZACIÓN DE LA INMUNOREACTIVIDAD PARA TIROXINA HIDROXILASA Y LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA HA DEMOSTRADO QUE LOS TRASPLANTES DE SUBSTANCIA NEGRA MANDAN FIBRAS QUE RODEAN EL SOMA DE LAS CÉLULAS GIGANTES, IDENTIFICADAS COMO COLINÉRGICAS. ADEMÁS, ESTAS FIBRAS DEL TRASPLANTE ESTABLECEN CONTACTOS SINÁPTICOS CON LAS CÉLULAS EFERENTES ESTRIATALES, DE MANERA SIMILAR A LAS QUE SE OBSERVAN EN LOS ANIMALES NORMALES. LOS SIMBOLOS + y - INDICAN LA INFLUENCIA EXCITADORA E INHIBIDORA QUE SE CONOCE.

(Tomado de FREUND et al, 1985).

un incremento en la reinervación del estriado dorsal por parte de los trasplantes de substancia negra fetal colocados en el ventrículo lateral (Freed and Cannon-Spoor, 1988).

Por otra parte, existe controversia con respecto a la posibilidad de que el tejido del animal hospedero sea capaz de inervar a los trasplantes de substancia negra y de esta manera regular la liberación de dopamina. La inyección del marcador retrogrado peroxidasa de rábano-aglutinina de germen de trigo, dentro del trasplante, no produce marcaje de las células del estriado, globo pálido o núcleos del rafé (Freund et al, 1985). Otro trabajo indica la presencia de terminales sinápticas aferentes (imunoreactivas a la substancia P y a la GAD) dentro del trasplante, en células marcadas con anticuerpos en contra de la tiroxina hidroxilasa; sin embargo en este trabajo se determinó que estas terminales sinápticas se originaban de células localizadas dentro del trasplante y no de células del tejido hospedero (Bolam et al, 1987). En contraste a estos datos, otro estudio demostró que algunas fibras se marcaron en el trasplante de mesencéfalo ventral, después de la inyección del marcador anterógrado Phaseous Vulgaris leucoaglutinina en la corteza anteromedial del animal hospedero (Doucet et al, 1990). Estos resultados sugieren la posibilidad de que el tejido del animal hospedero regule la actividad del trasplante.

#### ESTUDIOS ELECTROFISIOLOGICOS.

El registro unitario extracelular en trasplantes de substancia negra fetal colocados en el ventrículo lateral o en el

estriado, demuestra que las células del explante (tejido transplantado) presentan potenciales de acción, frecuencias y patrones de disparo similares a aquéllos que tienen las células dopaminérgicas de la sustancia negra compacta (Wuerthele et al, 1981; Fisher et al, 1991)(Fig. III. 4). La administración local de agonistas o antagonistas dopaminérgicos, alteran la actividad de las células registradas (Wuerthele et al, 1981). Resultados similares se han encontrado en las células identificadas como dopaminérgicas, que se trasplantaron al núcleo caudado de gatos en libre movimiento (Trulson y Hosseini, 1987). Sin embargo en este último estudio, las células registradas tenían una frecuencia de disparo mayor a la que se observa en la sustancia negra compacta y no presentaban un decremento en la amplitud de las espigas durante el registro. En otro estudio, el registro extracelular de células mesencefálicas disociadas que se colocaron en el estriado, mostró que las neuronas identificadas como células dopaminérgicas presentan una duración mayor en sus potenciales de acción, con respecto a las neuronas dopaminérgicas de animales adultos intactos (Fisher et al, 1991). Por otro lado, los trasplantes de sustancia negra fetal contienen, células con características electrofisiológicas diferentes a las células dopaminérgicas (Arbuthnott et al, 1985). que se han identificado como neuronas pertenecientes a la sustancia negra reticulada y a la formación reticular mesencefálica (Fisher et al, 1991). Es importante señalar que estas células no dopaminérgicas se presentan en un mayor número en animales que no muestran disminución en la conducta de giro (Arbuthnott et al,

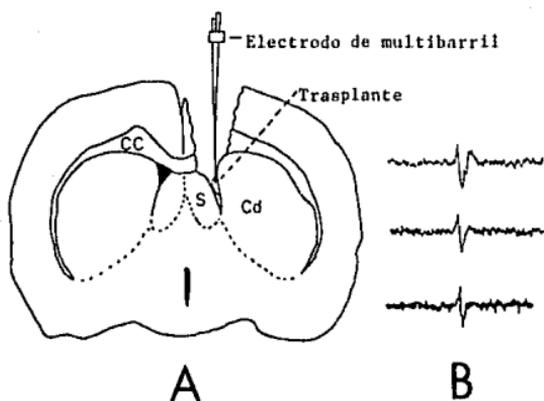


FIG. III. 4. REGISTRO ELECTROFISIOLÓGICO DE TRASPLANTES DE MESENCÉFALO VENTRAL (SUBSTANCIA NEGRA) COLOCADOS EN EL VENTRÍCULO LATERAL (A). PARTE DE LA CORTEZA Y EL CUERPO CALLOSO (CC) SE EXTIRPARON PARA PERMITIR LA COLOCACIÓN DEL ELECTRODO DE MULTIBARRIL EN EL TRASPLANTE. TRES EJEMPLOS DE POTENCIALES DE ACCIÓN QUE SE REGISTRARON EN LAS CÉLULAS DEL TRASPLANTE SE PRESENTAN (B). LA FRECUENCIA Y DURACIÓN DE ESTOS POTENCIALES DE ACCIÓN SON SIMILARES A LAS QUE SE OBSERVAN EN LAS CÉLULAS DE LA SUBSTANCIA NEGRA COMPACTA DE ANIMALES NORMALES, (MODIFICADO DE WUERTHELE ET AL, 1981)

S = SEPTUM  
Cd= ESTRIADO

1985). Tanto las células con características electrofisiológicas similares a las neuronas dopaminérgicas como aquéllas que no presentan estas características, pueden ser activadas de manera antidrómica, lo que sugiere que la inervación al neostriado denervado, por parte del tejido trasplantado, no es sólo de las células dopaminérgicas (Arbuthnott et al, 1985). Cabe destacar que en los animales sin lesión, la vía nigroestriatal contiene fibras que no son dopaminérgicas y que tienen su origen en la sustancia negra compacta (Van der Kooy et al, 1981). Por otra parte, la actividad electrofisiológica de las células estriatales se incrementa después de la lesión de la vía nigroestriatal; sin embargo, las células estriatales cercanas al trasplante (en una área no mayor de 1 mm) presentan una tasa de disparo menor y son sensibles a la aplicación de fenilciclidina, que aquellas células estriatales que están más alejadas del trasplante (2 mm) (Stromberg et al, 1985b).

En xenotrasplantes de tejido fetal humano que contienen a la sustancia negra, se ha demostrado que las células dopaminérgicas presentan patrones de actividad eléctrica espontánea (potenciales de acción bi o trifásicos, con duración mayor de 1.5 mseg y una frecuencia de 0.1 a 10 espigas/seg) similares a los encontrados en células dopaminérgicas de ratas sin lesión (Van Horne et al, 1990; Stromberg et al, 1991). La aplicación local de cis-flupentixol a estas células dopaminérgicas induce un aumento en su tasa de disparo, lo que sugiere la presencia de receptores dopaminérgicos (Stromberg et al, 1991).

## ESTUDIOS BIOQUIMICOS

Los primeros trabajos demostraron que los trasplantes intraventriculares de sustancia negra fetal, incrementaban la concentración de dopamina (30% con respecto a animales lesionados con 6-OHDA) sólo en las áreas estriatales cercanas al trasplante (Freed et al, 1980). Con la técnica de las células disociadas, también se ha demostrado un incremento en la concentración de dopamina (30% con respecto al grupo control) a lo largo del estriado (Dunnett et al, 1986).

Con la utilización de la técnica de microdiálisis intracerebral, que permite determinar la liberación in vivo de una sustancia neuroactiva, se ha demostrado que la concentración de dopamina aumenta de 40% a 85% en animales que reciben el trasplante, con respecto a animales con lesión con 6-OHDA (Zetterstrom et al, 1986; Strecker et al, 1987) (Fig. III. 5) o se incrementa 33% con respecto a animales sin lesión (Rioux et al, 1991a). Es importante mencionar que en estos trabajos la medición de la liberación de dopamina, no fue inducida por agentes farmacológicos y que el número de células dopaminérgicas así como el grado de reinervación se relacionan de manera directa con la cantidad de dopamina que se libera (Zetterstrom et al, 1986; Strecker et al, 1987; Rioux et al 1991a).

Con la utilización de técnicas electroquímicas como la voltametría, se ha determinado que los trasplantes de sustancia negra fetal presentan un patrón de liberación de monoaminas, inducido con +K, similar al que se observa en ratas sin lesión y que es dependiente de la cercanía al trasplante (Rose et al,

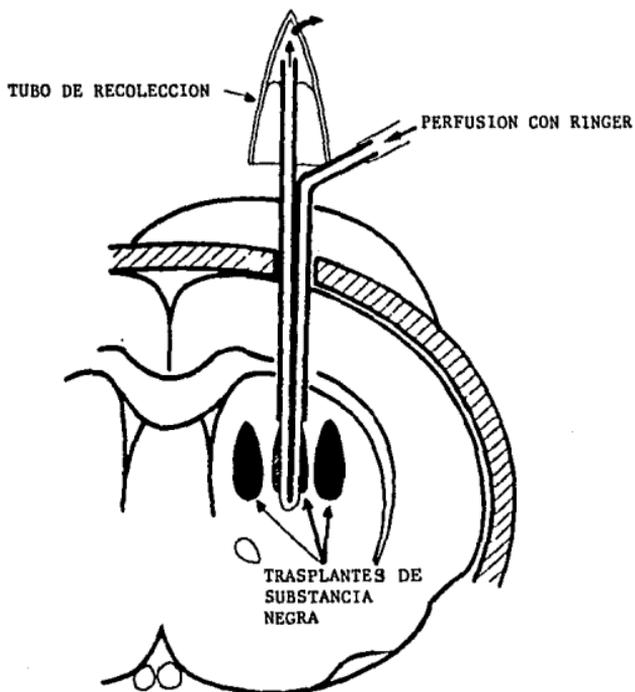


FIG. III. 5 ESTE DIBUJO MUESTRA LA TÉCNICA DE MICRODIALISIS QUE SE UTILIZA PARA DETERMINAR LA LIBERACIÓN IN VIVO DE UNA SUBSTANCIA NEUROACTIVA. LA MEMBRANA DE DIALISIS EN ESTRIADO ESTA RODEADA DE TRASPLANTES DE SUBSTANCIA NEGRA. MÁS DETALLES EN EL TEXTO. TOMADO DE STRECKER ET AL. 1987.

1985). Con la misma técnica, otro estudio ha mostrado que la señal voltamétrica correspondiente a la dopamina, va adquiriendo valores similares a los observados en animales intactos a partir de la sexta semana después de la implantación del trasplante (Forni et al, 1989); estos valores permanecieron sin cambio hasta el final del experimento (14 semanas) lo que sugiere una liberación constante de dopamina (Forni et al, 1989).

Como ya se mencionó anteriormente, la destrucción unilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal con 6-OHDA produce un incremento en el número de receptores dopaminérgicos en el neocstriado denervado. En estudios de autorradiografía cualitativa se ha demostrado que la colocación de trasplantes de tejido fetal dopaminérgico en el ventrículo lateral, reducen la supersensibilidad de los receptores dopaminérgicos en la parte dorso-medial (adyacente al trasplante) del neocstriado denervado; este efecto sólo se observó en animales que mostraron una disminución en la conducta de giro (Freed et al, 1983; Freed et al, 1985). Los estudio recientes que han utilizado un análisis cuantitativo, demuestran que este tipo de tejido fetal induce una normalización de los receptores dopaminérgicos estriatales a valores controles, en animales con decremento en la conducta de giro (Dawson et al, 1991; Rioux et al, 1991b).

Otros estudios han demostrado que los trasplantes de sustancia negra tienen diversas influencias en el estriado del hospedero. En la rata, se ha demostrado que los receptores opiáceos u en el estriado, forman una distribución en parches que corresponde a los estriosomas (Carpenter, 1984). Esta distribución en parches desaparece cuando se lesiona el sistema

dopaminérgico nigroestriatal (Sirinathsingji y Dunnett, 1989). Sin embargo, los trasplantes de sustancia negra inducen un restablecimiento de esta distribución en parches de los receptores u (Sirinathsingji y Dunnett, 1989). Estudios in vitro demuestran que la inhibición que ejercen la células dopaminérgicas nigroestriatales sobre las neuronas colinérgicas estriatales, desaparece después de la lesión con 6-OHDA, pero se restablece por medio de los trasplantes (Herman et al, 1988). La lesión de la vía dopaminérgica nigroestriatal incrementa la actividad de la enzima descarboxilasa del ácido glutámico (Vincent et al, 1978). Los trasplantes de sustancia negra normalizan la actividad de esta enzima, lo que significa que restauran el control inhibitorio sobre las células estriatales que contienen GABA (Segovia et al, 1989).

#### ESTUDIOS CONDUCTUALES.

La lesión del sistema dopaminérgico mesoestriatal, por la administración unilateral de la neurotoxina 6-OHDA, produce una asimetría motora, que se incrementa por la administración de agonistas dopaminérgicos (conducta de giro). Esta alteración motora se puede evaluar con facilidad y es un índice de la extensión de la lesión. Los estudios han demostrado que el trasplante de sustancia negra fetal produce una disminución significativa en la conducta de giro inducida por la estimulación dopaminérgica de receptores, por medio de agonistas dopaminérgicos como la apomorfina (Fig. III. 6) o una completa recuperación en la conducta de giro provocada por estimulantes

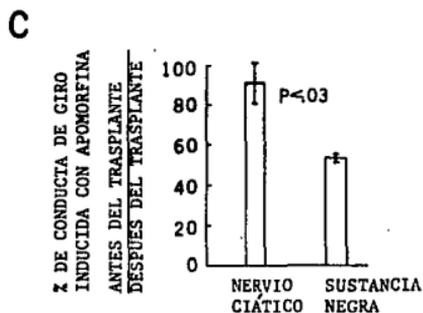
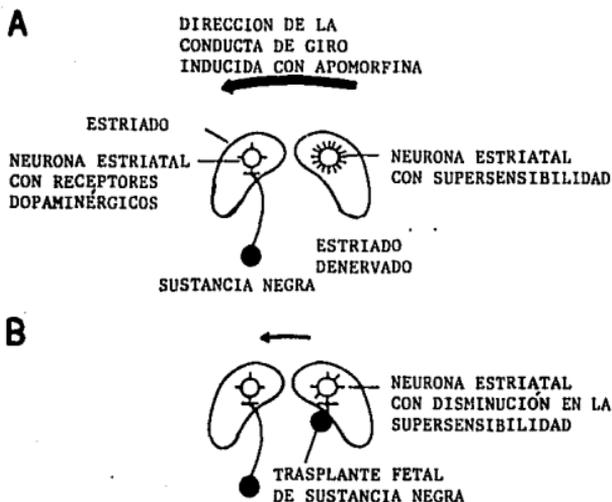


FIG. III.6

- A. ESTE DIBUJO MUESTRA LA LESIÓN DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO NIGROESTRIATAL. ESTA LESIÓN PRODUCE QUE LAS CÉLULAS DEL ESTRIADO DENERVADO DESARROLLEN UNA SUPERSENSIBILIDAD CON RESPECTO A LAS CÉLULAS DEL ESTRIADO NO LESIONADO. POR ELLO, EL AGONISTA DOPAMINÉRGICO APOMORFINA ACTIVA EN MAYOR EXTENSIÓN EN EL ESTRIADO DENERVADO Y EL ANIMAL PRESENTA UNA CONDUCTA DE GIRO EN LA DIRECCIÓN SEÑALADA.
- B. SI UN TRASPLANTE DE SUSTANCIA NEGRA SE COLOCA EN EL ESTRIADO DENERVADO, LA SUPERSENSIBILIDAD DE LAS CÉLULAS ESTRIATALES ES MENOR Y POR ELLO EL ANIMAL PRESENTA UNA DISMINUCIÓN DE LA CONDUCTA DE GIRO INDUCIDA CON APOMORFINA.
- C. ESTA GRÁFICA PRESENTA EL PORCENTAJE DE DISMINUCIÓN EN LA CONDUCTA DE GIRO INDUCIDA CON APOMORFINA. LA DISMINUCIÓN CON UN TRASPLANTE DE SUSTANCIA NEGRA ES SIGNIFICATIVA CON RESPECTO A UN TRASPLANTE DE NERVIIO CIÁTICO.

(Tomado de PERLOW, et al, 1979)

dopaminérgicos como la anfetamina (Bjorklund y Stenevi, 1979; Perlow et al, 1979; Freed et al, 1980; Bjorklund et al, 1980 a y b; Dunnett, et al, 1981a; Freed, 1983; Herman et al, 1985). El decremento en la conducta de giro se correlaciona con la disminución en la supersensibilidad de los receptores dopaminérgicos, con la extensión de las fibras dopaminérgicas que se originan en el trasplante y que reinervan al estriado lesionado (Bjorklund et al, 1980a; Schmidt et al, 1982; Freed et al, 1983; Freed et al, 1985). El tejido del nervio ciático, el tejido fetal de la corteza frontal, del tectum mesencefálico, de los núcleos del raquí o del estriado, no inducen una disminución de la conducta de giro (Perlow et al, 1979; Freed, 1983; Dunnett et al, 1988). Estos últimos datos sugieren que la recuperación de la asimetría motora que se observa en las ratas con una depletación dopaminérgica unilateral, es en parte, inducida por células dopaminérgicas. En apoyo de esta idea, los resultados de varios experimentos demuestran que el retiro del trasplante de sustancia negra fetal o que la inyección de 6-OHDA en el estriado que recibió células dopaminérgicas, reinstalan la conducta de giro a un nivel similar al observado antes del trasplante (Bjorklund et al, 1980a; Dunnett et al, 1988). Otro estudio demuestra que los trasplantes de sustancia negra que se colocan sobre el colículo superior, establecen conexiones funcionales con el estriado denervado a través de un segmento del nervio ciático, produciéndose de esta manera, una disminución de la conducta de giro inducida por anfetamina (Gage et al, 1985). Si la conexión que se establece por medio del nervio ciático se interrumpe, la conducta de giro se presenta a niveles cercanos a

los observados antes del trasplante (Gage et al, 1985). Este último trabajo es importante, ya que a diferencia de otros (Bjorklund et al, 1980a; Dunnett et al, 1988), el trasplante no recibe una manipulación experimental. El estriado es una estructura heterogénea en sus funciones y la colocación del trasplante de sustancia negra fetal en diferentes sitios de este núcleo, ha permitido conocer el perfil de recuperación en los animales lesionados. De esta manera, la colocación de trasplantes en el estriado dorsal induce un decremento en la conducta de giro espontánea o producida por la administración de amfetamina (Dunnett et al, 1981a), mientras que los trasplantes que se colocan en el estriado ventrolateral inducen una recuperación sólo en la asimetría sensoriomotora (Dunnett et al, 1981b).

A pesar de la recuperación sensoriomotora inducida por los trasplantes de sustancia negra fetal, algunas alteraciones no son afectadas. La lesión bilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal produce acinesia, negligencia sensorial bilateral, adipcia y afagia; de estos cambios, sólo la adipcia y la afagia no son modificadas por este tipo de trasplante (Dunnett et al, 1983b).

Los trasplantes de sustancia negra fetal colocados en una cavidad por encima del estriado favorecen el mantenimiento de la respuesta de autoestimulación intracraneal por parte del animal; este efecto no se presenta cuando se utiliza trasplantes de tejido fetal cortical (Fray et al, 1983).

El proceso de envejecimiento produce alteraciones en los sistemas neuroquímicos del cerebro y como consecuencia de ello se manifiestan una variedad de alteraciones motoras. Los trasplantes de sustancia negra se han utilizado para tratar de compensar estas deficiencias. La colocación de tejido fetal dopaminérgico en el estriado de animales viejos (21-23 meses de edad) inducen una mejoría en la coordinación motora (Gage et al, 1983b).

La administración sistémica de L-DOPA en animales con lesión unilateral con 6-OHDA, produce una conducta de giro en dirección contralateral (Ungertødt, 1971). La administración repetida de este fármaco produce un incremento en la conducta de giro (Gaudin et al, 1990), pero el trasplante dopaminérgico de células disociadas en el estriado denervado, evita este aumento (Gaudin et al, 1990). Este resultado sugiere que los trasplantes de sustancia negra pueden impedir el desarrollo de una supersensibilidad conductual producida por la administración crónica de agonistas dopaminérgicos.

El trasplante bilateral de sustancia negra en el estriado de animales sin ningún tratamiento experimental, induce un decremento en la locomoción espontánea, en la ingesta de agua y comida así como también un decremento en el peso corporal (Lu et al, 1990). En contraste, la actividad vertical (las ratas se mantienen erguidas apoyadas en sus miembros posteriores) se incrementa por la administración sistémica de anfetamina (Lu et al, 1990). Estos resultados demuestran que los trasplantes de sustancia negra se pueden integrar al tejido intacto produciendo con ello deficiencias conductuales.

Los trabajos mencionados en esta breve revisión, demuestran que los trasplantes de substancia negra fetal presentan propiedades e influencias fisiológicas similares a las que se observan en la substancia negra de animales sin tratamiento experimental. Sin embargo, los efectos de de estos trasplantes son limitados. Esto podría deberse a que las células del trasplante carecen de la influencia fisiológica normal que poseen las células de la substancia negra compacta.

**TRABAJO EXPERIMENTAL (ARTICULO ANEXO)**

**Este misterio se llama  
infinita profundidad.  
Profundidad no develada  
aún por el hombre.**

**Lao Tse.**

2-DEOXYGLUCOSE AUTORADIOGRAPHIC EVIDENCE THAT FETAL SUBSTANTIA  
NIGRA GRAFTS EXERT CONTRALATERAL EFFECTS IN  
6-HYDROXYDOPAMINE LESIONED ANIMALS WHO RECOVER MOTOR ASYMMETRIES

(6-hydroxydopamine / substantia nigra / grafting / turning  
behavior / 2-deoxyglucose)

Classification: Neurobiology

Antonio Zainos-Rosales, Raúl Aguilar-Roblero  
José-Luis Mendoza-Ramírez and René Drucker-Colín

Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Neurociencias,  
Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-600,  
04510 México D.F., México

Please send all correspondence related to this manuscript to:

Dr. René Drucker-Colín  
Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Apdo. Postal 70-600  
04510 México, D.F.  
México

#### ABSTRACT

Fetal substantia nigra grafts decrease turning behavior induced by dopaminergic agonists in rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal system. So far, there has been little search for locating influences of these grafts beyond the area where they are inserted. The purpose of this study was to determine through the [ $^{14}\text{C}$ ]-2-Deoxyglucose autoradiographic method, whether substantia nigra grafts have an effect on efferent striatal nuclei and other related structures. Animals were divided into: unlesioned rats injected with either saline or apomorphine and 6-hydroxydopamine-lesioned rats injected with saline, or apomorphine, or with apomorphine and grafted with non-dopaminergic tissue, or with apomorphine and grafted with fetal substantia nigra. The results showed a significant and unexpected enhancement of metabolic activity in the Substantia Nigra Reticulata and Striatum on the side contralateral to the lesion and a bilateral but slightly greater contralateral enhancement in the Thalamus and Fronto-Parietal Cortex only in rats bearing fetal substantia nigra grafts. No such pattern was found in the Entopeduncular Nucleus or Globus Pallidus. The results are discussed in terms of the possibility that substantia nigra grafts induce a widespread effect on several brain structures outside of the local area of the transplant, and that recovery of turning behavior may in part be caused by an increased activity of the striatum contralateral to the grafted side.

## INTRODUCTION

The unilateral administration of the neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the dopaminergic nigrostriatal system, induces a behavioral syndrome characterized by a postural asymmetry (1), which is enhanced when rats are injected with either amphetamine (ipsilateral turning) or apomorphine (contralateral turning) (1, 2). Since anatomical studies in the rat, have shown that the efferent projections of the striatum are directed towards the Globus Pallidus (GP), Entopeduncular Nucleus (EP) and Substantia Nigra Reticulata (SNR) (3,4), it is likely that this turning behavior, could be mediated by these output nuclei (5,6).

Fetal dopaminergic nigral grafts have been shown to reduce amphetamine or apomorphine-induced turning (7-9). A host of studies have reported that such grafts show spontaneous dopamine release, action potential waveforms, firing patterns and metabolic rates similar to those observed in the intact substantia nigra compacta (10-15). In addition, these grafts establish synaptic contacts with host striatal neurons (16,17). These findings could explain the decrease in turning behavior in the 6-OHDA model and show that the nigral grafts may become incorporated into the host denervated striatum. It would thus be expected that dopaminergic fetal tissue might have an influence on striatal efferent nuclei. However there has been little evidence with regard to this hypothesis. The only study addressing the question of graft influences on efferent pathways, reported that in animals receiving a substantia nigra graft which decreased turning behavior, a decrease in local

cerebral glucose utilization (LCGU) occurred in GP only (15). However, the authors of this study did not use a dopaminergic agonist when doing the 2-deoxyglucose autoradiographic study of their animals. For this reason, the actual effect of substantia nigra fetal grafts could not be completely determined. In order to obtain, information about the possible influence of fetal dopaminergic nigral grafts on output pathways from the striatum, we studied turning behavior as well as the rate of LCGU in several brain areas using [ $^{14}$ C]-2-deoxyglucose autoradiography in grafted and non-grafted animals with a previous unilateral 6-OHDA lesion, during stimulation of striatal dopaminergic receptors by means of systemic apomorphine administration.

## METHODS

### Animals and Treatments

Twenty seven male Wistar rats weighing 180-200 g at the start of the experiment were used. These animals were divided into 6 age matched groups as follows: Group SAL (n=5) consisted of unlesioned animals injected with only saline; Group APO (n=4) consisted of unlesioned animals injected with 0.25 mg/kg, i. p. of apomorphine; Group LES+SAL (n=4) consisted of 6-OHDA lesioned animals injected with saline; Group LES+APO (n=5) consisted of 6-OHDA lesioned animals injected with 0.25 mg/kg, i.p. of apomorphine; Group LES+APO+NDA (n=4) consisted of 6-OHDA lesioned animals injected with 0.25 mg/kg, i.p. of apomorphine and grafted with non-dopaminergic graft; Group LES+APO+SN (n=5) consisted of 6-OHDA lesioned animals injected with 0.25 mg/kg, i.p. of apomorphine and grafted with fetal substantia nigra. All

animals were housed under 12 h light/12 h dark conditions with access to food and water ad libitum. Animals were anesthetized with halothane (0.4% in a 95% / 5% mixture of O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>) and were positioned in a stereotaxic frame (Kopf). 6-hydroxydopamine hydrobromide (Sigma Chemical Co.), 8 µg in 4 µl of saline solution containing 0.5 mg/ml of ascorbic acid, was injected into the left medial forebrain bundle, at the following stereotaxic coordinates: bregma - 2.7 mm AP, 1.5 mm L and 8.6 mm V below dura, with the incisor bar 2.4 below the interaural line (18). This neurotoxin was injected at a rate of 1 µl per minute. After the administration, the needle was left in place for 4 minutes.

#### Procedure for grafting.

Fetal tissue was obtained from Wistar rat embryos of 15-17 days of gestation (16-20 mm crown-rump length). Pregnant female rats were anesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg i.p.). The uterus was exposed and each embryo was extracted. Ventral mesencephalic tissue which contained the substantia nigra and the ventral tegmental area (dopaminergic tissue) was dissected in sterile saline solution. This tissue (1 cubic mm approximately) was injected into the left lateral ventricle of some of the 6-OHDA-lesioned rats. These rats were anesthetized the same way as when they were lesioned. The stereotaxic coordinate of the lateral ventricle was 1.0 mm anterior to bregma, 1.1 mm lateral to the midsagittal suture and 4.6 mm below the dura (23). A similar procedure was accomplished with the dorsal mesencephalic tissue (non-dopaminergic tissue).

### Behavioral Test.

All 6-OHDA lesioned animals were tested with apomorphine (0.25 mg/kg, i.p.) every 10 days during 30 days after the 6-OHDA lesion, in order to determine whether the dopaminergic nigrostriatal system had become lesioned. Only rats showing a turning rate greater than 225 complete rotations ( $360^{\circ}$ ) in 30 minutes, were considered well denervated (1) and were included in the study. Following these 30 days, the turning behavior of all animals was tested again every 10 days throughout 60 additional days. As a result, each animal received 9 injections of apomorphine after the initial lesion. In sum then, the lesioned animals were tested 90 days after the lesion, and the grafted animals were followed for 60 days after the graft. Several studies have shown that after such time scales, neither decreases (19-21), nor increases in turning behavior (1,22) occur. For this reason, at the end of this period (90 days after the 6-OHDA lesion) all rats from all groups were prepared for the 2-deoxyglucose autoradiography.

### [<sup>14</sup>C]-2-deoxyglucose autoradiography.

As mentioned above, after the last behavioral evaluation all animals were prepared for the [<sup>14</sup>C]-2-deoxyglucose autoradiography which was performed as reported before (24). Briefly, the rats were lightly anesthetized with halothane (0.4% in a 95-5% mixture of O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>) and catheters were inserted into the femoral vein and artery. After this, the rats were restrained using a cloth restraint jacket (25) and the anesthesia was discontinued. At least 2 hours were allowed for recovery from

anesthesia. Then the rats were given by intravenous administration either apomorphine (0.25 mg/kg) or saline solution. Ten minutes later (26) the animals received an intravenous injection of [ $^{14}\text{C}$ ]-2-deoxyglucose (10  $\mu\text{Ci}/100\text{g}$ ; 52.7-60  $\text{mCi}/\text{mmol}$ ) over 20 seconds and samples of arterial blood were collected for the next 45 minutes. All animals received the same dose of apomorphine and of [ $^{14}\text{C}$ ]-2-deoxyglucose. In contrast with the other 6-OHDA-lesioned groups which received apomorphine, the animals of Group 6-OHDA+SAL received only a saline injection before the [ $^{14}\text{C}$ ]-2-deoxyglucose administration. At the end of this 45 minutes period, the rats were decapitated, the brains removed and immediately frozen in isopentane ( $-70^{\circ}\text{C}$ ). Coronal sections (20  $\mu\text{m}$ ) were cut in a cryostat at  $-16^{\circ}\text{C}$ , mounted onto clean gelatin-coated glass slides and dried at  $60^{\circ}\text{C}$  on a hot plate for exposure with beta-max hyperfilm (Amersham) for 6 days. A series of 12 precalibrated [ $^{14}\text{C}$ ]-methylmetacrylate standards (concentration range 10.1 - 1069  $\text{nCi}$ ) (Amersham) were placed on each autoradiogram in order to allow quantification of the LCGU. In addition, some sections were stained with cresyl violet in order to be able to specifically detect the grafted tissues.

#### Computer imaging analysis.

Film autoradiographs were analyzed with a micro computer imaging device (MCID, Imaging Research Inc.). Each autoradiograph was converted to a digital display of medium resolution (512 x 512 Pixels) by means of a video camera. This process transforms optical density into a LCGU value, according to an imaging system for autoradiographic densitometry (27). The

structures analyzed were: Substantia Nigra Reticulata (SNR), Entopeduncular Nucleus (EP), Globus Pallidus (GP), Striatum (ST), Thalamus (THA), Amygdala (AMY), Lateral Habenular Nucleus (LHN) and Fronto-Parietal Cortex (CX). For each brain region in every animal, a computer outline was superimposed over the structure until the entire area was covered in order to determine LCGU. This sampling procedure allowed to use between 4 to 12 slices per structure. A total of 706 slices were thus analyzed.

## RESULTS

### 1.- Turning behavior.

There were no differences in turning behavior between groups LES + SAL ( $\bar{X}=296.750 \pm 31.85$  SEM turns/30 min), LES+APO ( $\bar{X}=302 \pm 43.45$  SEM turns/30 min), LES+APO+SN ( $\bar{X}= 363 \pm 32.85$  SEM turns/30 min) and LES + APO + NDA ( $\bar{X} = 373 \pm 33.87$  SEM turns/30 min) before transplantation, that is 30 days after the 6-OHDA lesion (Fig. 1) The ungrafted rats (LES + SAL and LES +APO) showed no change in their turning rate ( $\bar{X}=313.75 \pm 61.81$  SEM turns/30 min and  $\bar{X}=353 \pm 25.55$  SEM turns/30 min respectively) after 60 days, but the turning behavior was reduced in animals with substantia nigra grafts (LES+APO+SN) ( $\bar{X}=171 \pm 16.05$  SEM turns/30 min) ( $F_{5,21} = 107.67$   $p < 0.01$  Scheffe's test) (Fig. 1). On the other hand, group (LES+APO+NDA), showed no change in turning behavior ( $\bar{X}=369.5 \pm 26.6$  SEM turns/30 min) (Fig. 1).

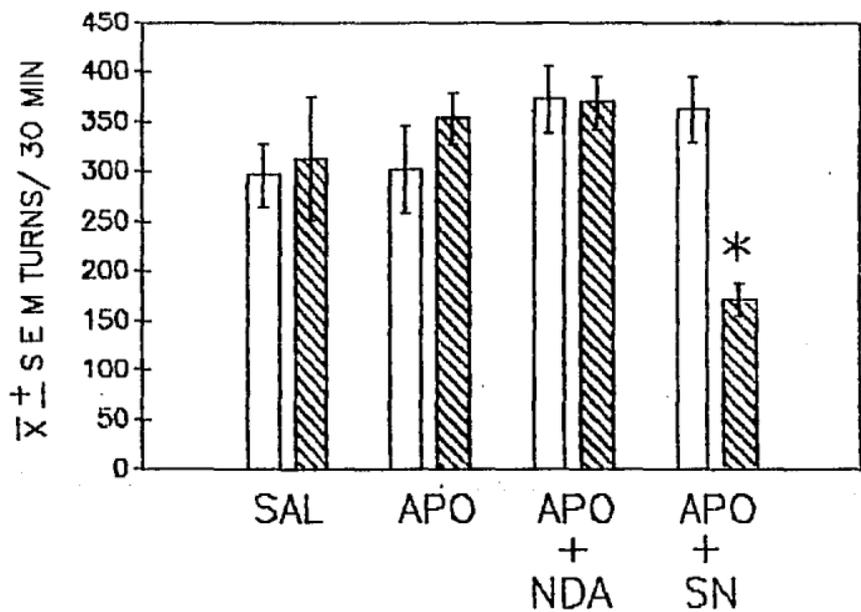
### 2.- Histology

Figure 2 shows a Nissl stain of a coronal section at the level of the lateral ventricle, which clearly shows the fragment

**Fig. 1** Turning behavior induced with apomorphine (0.25 mg/Kg). The blank bars indicate the rotations before grafting (30 days after 6-OHDA lesion). The shaded bars indicate the turning behavior before the 14C-2-Deoxyglucose administration (60 days after grafting). Note that only the animals of the group LES+APO+SN showed a decrease in turning behavior.

\*  $P < 0.01$

TURNING BEHAVIOR IN THE 6-OHDA-LESIONED  
GROUPS



**Fig. 2** Cresyl violet stain of a substantia nigra graft in a coronal section at the level of the lateral ventricle. Nissl-positive cells can be seen in the graft suggesting surviving tissue.

# FETAL SUBSTANTIA NIGRA GRAFT



of grafted fetal substantia nigra. In general, all transplanted animals showed a similar mass of tissue with healthy Nissl positive cells, indicating that the grafted tissue was viable.

### 3.- Local cerebral glucose utilization (LCGU).

The results showed, first of all, that no significant differences in LCGU were found in the groups SAL, APO and LES+SAL, neither between groups nor between left and right sides within groups, in all structures analyzed (Fig. 3; Table 1). A One-way ANOVA, followed by a Duncan's multiple range test, showed a significant enhancement of LCGU in groups LES+APO, LES+APO+NDA and LES+APO+SN with respect to groups SAL, APO and LES+SAL in the following brain regions: ST ( $F=10.36$ ;  $P < 0.001$ ); SNR ( $F=15.40$ ;  $P < 0.001$ ) and THA ( $F=46.30$ ;  $P < 0.001$ ). In the case of CX, only group LES+APO+SN showed a significant difference ( $F=32.01$ ;  $P < 0.001$ ) with regard to the others groups. There were no differences in any groups in EP, GP, AMY and LHN.

As for the left-right differences, within groups, the results showed a significant difference in ST in LES + APO ( $t = 6.17$ ;  $P < 0.005$ ) and LES + NDA ( $t = 6.08$ ;  $P < 0.005$ ) groups but not in the LES+APO+SN group (Fig 3; Table 1) which showed an enhancement in LCGU in the undenervated ST (Fig. 4-1F). A similar pattern in LCGU was observed in the SNR which showed a significant difference in LES + APO ( $t = 14.2$ ;  $P < 0.005$ ) and LES + APO + NDA ( $t = 8.01$ ;  $P < 0.005$ ) groups but not in animals with a decrease in turning behavior (LES + APO + SN) (Fig 3; Table 1). On the other hand, in the thalamus it was observed that LES + APO ( $t = 8.65$ ;  $P < 0.005$ ), LES + APO + NDA ( $t = 9.39$ ;  $P <$

Fig. 3 These graphs show the mean difference  $\pm$ SEM between left and right sides in LCGU for Striatum (ST), Substantia Nigra Reticulata (SNR), Thalamus (THA), Fronto-parietal cortex (CX), Lateral Habenular Nucleus (LHN), Entopeduncular Nucleus (EP), Globus Pallidus (GP) and Amygdala (AMY) in each group. Note that in animals with substantia nigra grafts the left-right difference in ST and SNR was not significant, indicating that the contralateral nuclei increased their LCGU.

\*  $P < 0.005$  Paired Student's t test.

# LEFT - RIGHT DIFFERENCES IN LCGU

( $\mu\text{moles} / 100 \text{ grs} / \text{min}$ )

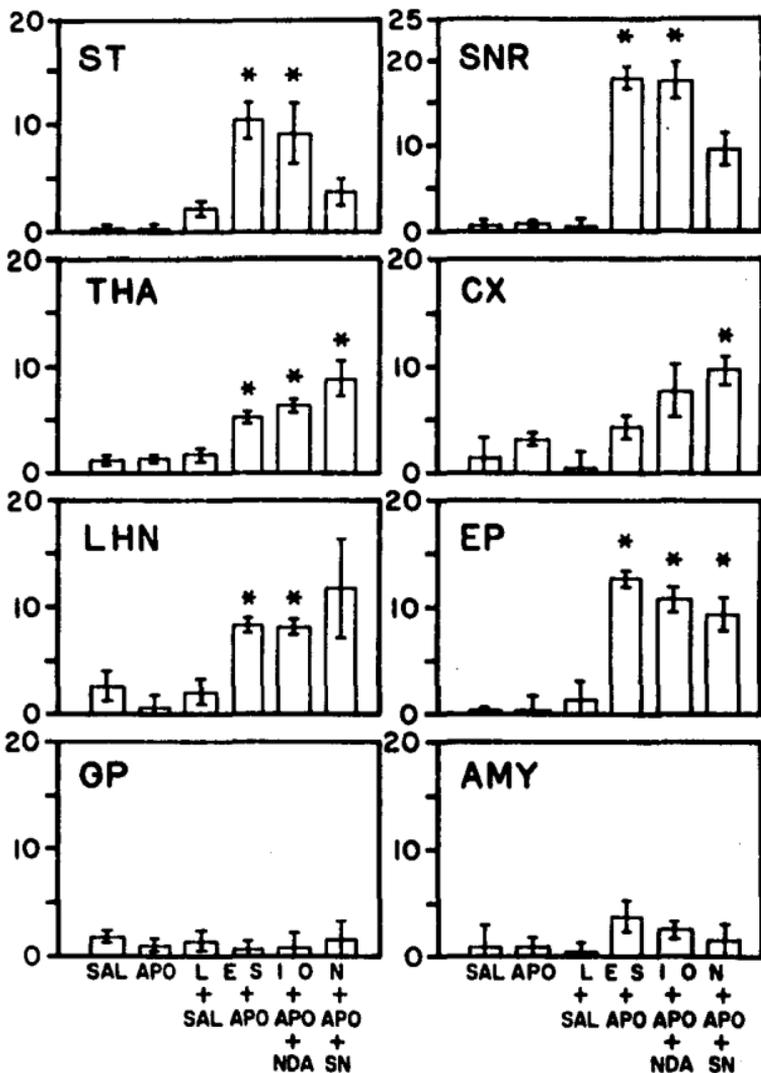


TABLE 1. Mean  $\pm$  SEM expressed in micromoles/100 gr/min of LCGU in left and right hemispheres for several structures. t-paired tests were used to compare both sides for each group.

BRAIN REGIONS		SAL (n=5)	APO (n=4)	LES + SAL (n=4)	LES + APO (n=5)	LES + APO + NDA (n=4)	LES + APO + SN (n=5)
ST	L	49.60 $\pm$ 4.40	54.29 $\pm$ 1.85	42.22 $\pm$ 2.12	60.37 $\pm$ 2.03	63.22 $\pm$ 2.27	67.16 $\pm$ 2.49
	R	49.70 $\pm$ 4.67	54.40 $\pm$ 2.29	45.19 $\pm$ 2.05	49.90 $\pm$ 1.94*	55.12 $\pm$ 2.26*	70.18 $\pm$ 2.12
SNR	L	36.49 $\pm$ 5.71	39.22 $\pm$ 2.19	33.51 $\pm$ 4.88	63.25 $\pm$ 4.91	67.36 $\pm$ 5.29	71.28 $\pm$ 1.66
	R	37.09 $\pm$ 5.71	38.38 $\pm$ 1.99	34.02 $\pm$ 4.37	45.33 $\pm$ 4.94*	49.79 $\pm$ 3.99*	61.70 $\pm$ 2.77
THA	L	47.69 $\pm$ 4.16	51.64 $\pm$ 1.98	41.52 $\pm$ 2.91	51.27 $\pm$ 3.27	52.96 $\pm$ 1.48	71.52 $\pm$ 1.65
	R	48.86 $\pm$ 4.02	52.96 $\pm$ 1.90	43.26 $\pm$ 2.77	56.59 $\pm$ 3.26*	59.29 $\pm$ 1.55*	80.27 $\pm$ 2.54*
CX	L	51.80 $\pm$ 4.77	56.82 $\pm$ 2.03	46.95 $\pm$ 4.45	52.73 $\pm$ 5.45	55.63 $\pm$ 1.56	76.03 $\pm$ 3.47
	R	53.35 $\pm$ 4.86	59.98 $\pm$ 1.76	47.54 $\pm$ 5.04	57.14 $\pm$ 6.17	63.51 $\pm$ 2.26	85.71 $\pm$ 3.01*
LHN	L	52.09 $\pm$ 4.43	59.51 $\pm$ 6.10	51.24 $\pm$ 6.11	44.24 $\pm$ 3.40	44.89 $\pm$ 5.23	66.41 $\pm$ 5.57
	R	54.75 $\pm$ 5.28	60.19 $\pm$ 6.25	49.11 $\pm$ 6.82	52.59 $\pm$ 3.10*	53.11 $\pm$ 5.79*	78.30 $\pm$ 7.14
EP	L	34.38 $\pm$ 5.34	33.77 $\pm$ 2.77	28.63 $\pm$ 5.84	54.47 $\pm$ 7.61	54.09 $\pm$ 4.75	61.08 $\pm$ 3.14
	R	34.63 $\pm$ 5.30	34.01 $\pm$ 2.69	30.08 $\pm$ 6.12	41.71 $\pm$ 8.04*	43.34 $\pm$ 4.70*	51.64 $\pm$ 3.22*
GP	L	32.68 $\pm$ 5.85	35.30 $\pm$ 1.81	31.06 $\pm$ 2.83	37.10 $\pm$ 6.32	45.52 $\pm$ 2.02	50.78 $\pm$ 2.23
	R	34.52 $\pm$ 6.00	34.28 $\pm$ 1.65	29.67 $\pm$ 2.93	36.44 $\pm$ 6.04	46.33 $\pm$ 2.79	49.10 $\pm$ 2.62
AMY	L	37.87 $\pm$ 4.52	42.98 $\pm$ 2.60	36.56 $\pm$ 2.12	40.35 $\pm$ 4.31	38.92 $\pm$ 1.44	47.49 $\pm$ 2.67
	R	36.85 $\pm$ 5.38	43.96 $\pm$ 2.24	36.85 $\pm$ 1.72	44.13 $\pm$ 5.20	41.54 $\pm$ 1.61	48.15 $\pm$ 2.78

\* P < 0.005 (significant differences between left and right)

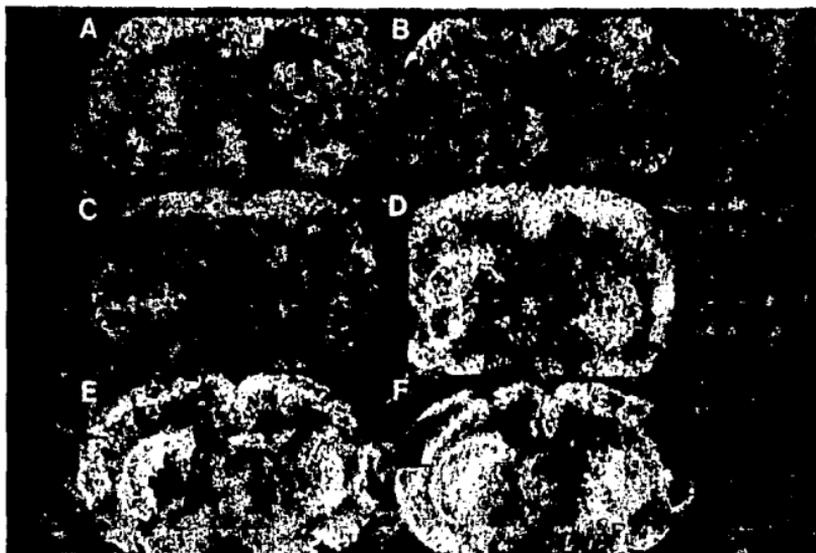
0.005) and LES + APO + SN ( $t = 5.2$ ;  $P < 0.005$ ) groups presented a significant left-right difference ( $P < 0.005$ ) (Fig. 3, Table 1 and Fig. 4-2 D-F). Moreover, a very significant bilateral enhancement in LCGU was observed in this area in group LES + APO + SN ( $F = 46.30$ ;  $P < 0.001$ ) (Fig. 4-2F). In the case of the Fronto-Parietal cortex (CX) only group LES + APO + SN showed a significant difference between left and right sides ( $t = 7.22$ ;  $P < 0.005$ ), (Fig. 3 Table 1). Also, in this group there was a bilateral enhancement of LCGU in CX (Fig. 4-1F and 4-2F). In the LHN, only groups LES + APO ( $t = 11.97$ ;  $P < 0.005$ ) and LES + APO + NDA ( $t = 12.12$ ;  $P < 0.005$ ) showed a significant difference (Fig. 3, Table 1). With respect to other striatal output nuclei only EP was found to differ ( $t = 16.48$ ;  $P < 0.005$ ) in LES + APO, LES + APO + NDA ( $t = 9.2$ ;  $P < 0.005$ ) and LES + APO + SN groups ( $t = 6.31$ ;  $P < 0.005$ ) (Fig. 3, Table 1). In contrast, no differences were found in GP and AMY in any of these groups (Fig. 3, Table 1).

#### DISCUSSION

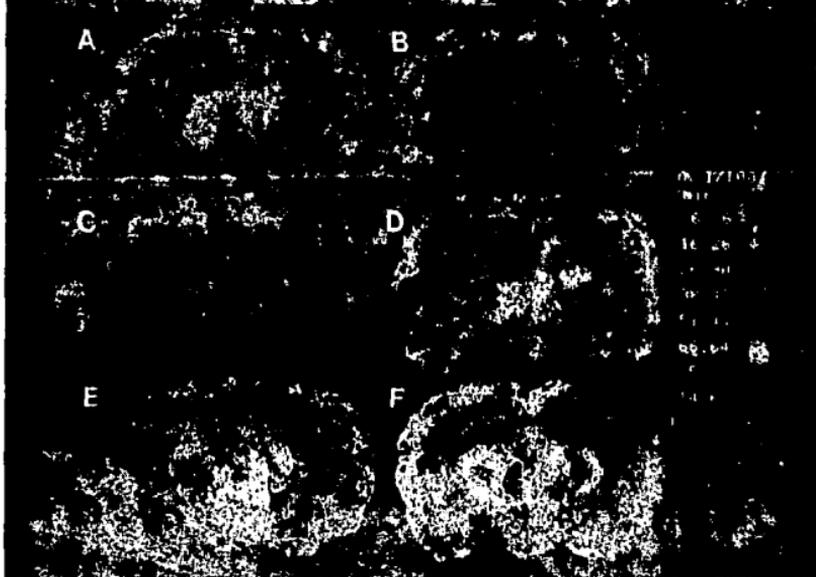
The decrease in turning behavior observed in this study as a result of the SN grafts is similar to those reported in other studies (7,19,21). The LCGU evaluation, therefore, was carried out in animals in which the grafts in fact produced a significant reduction of motor asymmetries. The 2-DG autoradiography technique utilized in this study was performed according to Sokoloff et al (24) who used restrained rats. Since previous studies have shown that metabolic activity in the basal ganglia

Fig. 4 Computer image of autoradiograms illustrating the LCGU in the Striatum (1) and the Thalamus (2). A lateral slit indicates the left 6-OHDA-lesioned side. Letters indicate the groups: A = Saline (SAL); B = Apomorphine (APO); C = Lesion + SAL; D = Lesion + APO; E = Lesion + APO + Non-dopaminergic graft and F = Lesion + APO + Substantia nigra graft. Note in 1-F how right striatum shows an enhancement in LCGU which almost matches LCGU on the lesioned left side. This does not occur in either D or E. In the Thalamus (2) rats with substantia nigra graft (F) show a spectacular bilateral enhancement in LCGU, though slightly greater on the non-lesioned side. The slices in the figure correspond to Antero Posterior Plane (AP) 0.70-0.20 mm from Bregma for number 1 and -3.14 - -3.30 mm from Bregma for number 2.

1



2



0. 17103  
111  
6. 5  
10. 25  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100

and related structures, is similar in restrained (28) and in unrestrained (29) 6-OHDA lesioned animals injected with apomorphine, we can probably rule out the possibility that LCGU was influenced by the prevention of turning. With these considerations in mind, it should be noted that animals without lesions and injected only with saline or apomorphine did not differ in LCGU in any structure. Although, some authors have reported significant increases in LCGU in several structures including the basal ganglia by the mere injection of apomorphine (30,31), it should be pointed out that this was reported to occur only at much higher doses than those used in our study. As for the 6-OHDA lesioned animals, it is interesting to note first of all, that the mere lesion of the nigro-striatal pathway does not induce any significant change in LCGU (see Fig. 4-1C and 4-2C). However, as soon as a lesioned animal is injected with apomorphine a dramatic increase in LCGU can be observed in several structures (see Fig. 4-1D, E and F and 4-2 D,E and F). Moreover, it was observed that the addition of a graft did not further modify LCGU, except for the group in which a dopaminergic graft was placed. But most interestingly, the change was not observed to occur on the lesioned side, but on the contralateral side. This suggests that the recovery of motor asymmetries in grafted animals subjected to 6-OHDA lesions may not only be due to an effect or a recovery on the side of the lesion (32,33) but rather on an activation of the contralateral side. It appears as though it is the contralateral side which promotes a return to symmetry between left and right sides. This is a very interesting

result, first of all because transplanted patients with Parkinson's disease, showed bilateral improvements of their symptoms although the grafts were unilateral (34) and secondly it suggests that the recovery from asymmetries following 6-OHDA lesions occurs more as a result of some process taking place on the non-lesioned side, and lends further credence to the idea that such recovery does not necessarily occur as a result of recovery in receptor asymmetries (35) as has been reported in several studies (32,33,36).

From the results obtained in this experiment it can be concluded that SN grafts have an effect well beyond the area where they are placed. The changes that were found in Thalamus, Proto-parietal Cortex, SNR and Striatum are likely to reflect this influence. Obviously the mechanisms or pathways involved are presently unknown. This study allows for the first time to suggest that in the recovery of turning behavior of grafted 6-OHDA lesioned animals, though surely a multifactorial event, the non-lesioned contralateral side may play a crucial role.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partially supported by FIRESIN and Fideicomiso UNAM. We wish to thank Jesús Méndez-Franco for his technical assistance and Mrs. Teresa Torres-Peralta for typing the manuscript.

## REFERENCES

1. Ungerstedt, U. (1971) *Acta Physiol. Scand.* 82 , Suppl. 367, 69-93.
2. Perese, D. A., Ulman, J., Viola, J., Ewing, S. E. & Bankiewicz, K. S. (1989) *Brain Res.* 494 , 285-293.
3. Nagy, J. I., Carter, D. A. & Fibiger, H. C. (1978) *Brain Res.* 158 , 15-29.
4. Carpenter, M. B. (1984) in *The Basal Ganglia structure and function*, eds. McKenzie, J. S., Kemm, R. E. & Wilcock, L. N. (Plenum Press, New York, NY) pp. 1-68.
5. Dewar, D. Jenner, P. & Marsden, C. D. (1983) *Exp. Brain Res.* 52 , 281-292.
6. Scheel-Krüger, J. (1986) *Acta Neurol. Scan.* 73 , Suppl.107, 1-49.
7. Perlow, M. J., Freed, W. J., Hoffer, B. J., Seiger, A., Olson, L. & Wyatt, R. J. (1979) *Science* 204 , 643-647.
8. Bjorklund, A. & Stenevi, U. (1979) *Brain Res.* 177 , 555-560.
9. Bjorklund A., Dunnett, S. B., Stenevi, U., Lewis, M. E. & Iversen, S. D. (1980) *Brain Res.* 199 , 307-33.
10. Zetterstrom, T., Brundin, P., Gage, F. H., Sharp, T., Isacson, O., Dunnett, S. B., Ungerstedt, U. & Bjorklund, A. (1986) *Brain Res.* 362 , 344-349.
11. Strecker, R. E., Sharp, T., Brundin, P., Zetterstrom, T., Ungerstedt, U. & Bjorklund, A. (1987) *Neuroscience* 22 , 169-178.
12. Wuerthele, S. M., Freed, W. J., Olson, L., Morihisa, J., Spoor, H. E., Wyatt, R. J. & Hoffer, B. J. (1981) *Exp. Brain Res.* 44, 1-10.

13. Trulson, M. E. & Hosseini, A. (1987) *Life Sci.* 40 , 2097-2102.
14. Fisher, L. J., Young, S. J., Tepper, J. M., Groves, P. M. & Gage, F. H. (1991) *Neuroscience* 40 , 109-122.
15. Schmidt, R. H., Ingvar, M., Lindvall, O., Stenevi, U. & Bjorklund, A. (1982) *J. Neurochem.* 38 , 737-748.
16. Freund, T. F., Bolam, J. P., Bjorklund, A., Stenevi, U., Dunnett, S. B., Powell, J. F. & Smith, A. D. (1985) *J. Neurosci.* 5 , 603-616.
17. Mahalik, T. J., Finger, T. E, Stromberg, I. & Olson, L. (1985) *J. Comp. Neurol.* 240 , 60-70.
18. Kning, J. F. R. & Klippel, R. A. (1963) *The rat brain* (The Williams and Wilkins Company, Baltimore), pp. 1-5.
19. Freed, W. J., Perlow, M. J., Karoun, F., Seiger, A., Olson, L., Hoffer, B. J. & Wyatt, R. J. (1980) *Ann. Neurol.* 8 , 510-519.
20. Freed, W. (1983) *Biol. Psychia.* 18 , 1205-1267.
21. Simonds, G. R. & Freed, W. J. (1990) *Brain Res.* 530 , 12-19.
22. Drucker-Colin, R., Garcia-Hernández, F., Mendoza-Ramirez, J. L., Pacheco-Cano, M. T. & Komisaruk, B. R. (1990) *Progress in Brain Res.* 82 , 509-514.
23. Paxinos, G. & Watson, C. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates* (Academic Press, Orlando).
24. Sokoloff, L. M., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M. H., Patlak, C. S., Pettigrew, K. D., Sakurada, O. & Shinohara, M. (1977) *J. Neurochem.* 28 , 897-916.
25. German, D. C. & Miller, J. D. (1982) *Brain Res. Bull.* 8 , 539-542.

26. McCulloch, J., Savaki, H. E., McCulloch, M. C. & Sokoloff, L. (1979) *Nature* 282 , 303-305.
27. Ramm, P. J., Kulick, J. H., Stryker, M. P. & Frost, B. J. (1984) *J. Neurosci. Methods* 11 , 89-100.
28. Kozlowski, M. R. & Marsahll, J. F. (1980) *Brain Res.* 197 , 167-183.
29. Wooten, G. F. & Collins, R. C. (1983) *Brain Res.* 263 , 267 - 275.
30. Brown, L. L. & Wolfson, L. I. (1978) *Brain Res.* 140 , 188 - 193.
31. McCulloch, J., Savaki, H. E., McCulloch, M. C. & Sokoloff, L. (1982) *Brain Res.* 243 , 67-80.
32. Freed, W. J., Ko, G. N., Niehoff, D.L., Kuhar, M. J., Hoffer, B. J., Olson, L., Cannon-Spoor, E. & Wyatt, R. M. (1983) *Science* 222 , 937-939.
33. Dawson, M. T., Dawson, L. V., Gage, F., Fisher, L. J., Hunt, A. M. & Wamshi, K. J. (1991) *Exp. Neurol.* 111 , 282-292.
34. Madrazo, I., Drucker-Colín, R., Díaz, V., Martínez-Mata, J., Torres, C. & Becerril, J. J. (1987) *New Engl. J. Med.* 316 , 831-834.
35. Mendoza-Ramírez, J. L., Aguilar-Roblero, R., Zainos-Rosales, A. and Drucker-Colín, R. (1991) *Res. Neurol. Neurosci.* 3 , 177-185.
36. Freed, W. J., Olson, L., Ko, G. N., Morihisa, J. M., Niehoff, D., Stromberg, I., Kuhar, M., Hoffer, B. J. & Wyatt, R. J. (1985) in *Neural Grafting in the Mammalian CNS*, eds. Bjorklund, A. & Stenevi, U. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands. pp. 471-489.

**V.- DISCUSION**

**Si queréis saber el asunto  
que me trae ante vosotros  
con tal raro adorno,  
vais a saberlo, si os  
dignais escucharme.**

**Erasmus de Rotterdam**

Los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que los trasplantes de sustancia negra fetal pueden tener una influencia más allá del lugar donde se colocan; en este caso, del estriado denervado. Además pueden disminuir las asimetrías que se presentan en la utilización local de glucosa cerebral (ULGC), en algunas áreas cerebrales relacionadas con la conducta de giro.

#### EL METODO DE [14 C]-2-DESOXIGLUCOSA

El método de [14 C]-2-Desoxiglucosa ([14 C]-2DG) es una herramienta que permite conocer el índice de actividad funcional en regiones discretas del sistema nervioso a través de la determinación de ULGC. Se ha propuesto que un incremento en la actividad funcional de una estructura conduce a un aumento en ULGC; un decremento en la actividad funcional, deprime la tasa de ULGC (Sokoloff et al, 1977; Sokoloff, 1983; Sokoloff, 1989). Sin embargo, se conoce poco acerca de los mecanismos que relacionan la actividad neurofisiológica con la tasa de ULGC. Los estudios in vitro han propuesto que el incremento en ULGC esta en relación con un aumento en la actividad de la bomba  $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{ATPasa}$ , pero no con la producción de potenciales de acción; este efecto se localiza principalmente en las terminales nerviosas y dendritas (Schwartz et al, 1979; Mata et al, 1980). Los estudios in vivo con animales anestesiados han demostrado que la estimulación eléctrica de aferentes del ganglio cervical superior o del nervio ciático, induce un aumento en ULGC que está en relación directa con la frecuencia de estimulación; estos estudios señalan que las terminales axonales y no los somas son los sitios en donde la

tasa de ULGC es más alta (Yarowsky et al, 1983; Kadekaro et al, 1985). Otro estudio sugiere que la estimulación sensorial puede inducir un proceso inhibitor que se refleja en un decremento de ULGC (Webster et al, 1984). Por otro lado, las células gliales también son afectadas por el marcaje radioactivo de la 2-DG (Hand, 1981; Duncan et al, 1990).

Los cambios en la tasa de ULGC que se encontraron en los diferentes grupos que se reportan en esta tesis, estarían regulados, al menos en parte, por estos mecanismos.

#### CONDUCTA DE GIRO.

La disminución en la conducta de giro en los animales con trasplante de tejido fetal de substancia negra (Grupo LES+APO+SN), es similar al reportado en experimentos previos, en los que el trasplante se colocó en el ventrículo lateral adyacente al estriado denervado (Perlow et al, 1979; Freed et al, 1980; Simonds y Freed, 1990). Como ya se mencionó en una sección anterior (ver modelos animales de la enfermedad de Parkinson), los mecanismos relacionados a la conducta de giro producida por la administración de apormorfina o anfetamina no son similares. En apoyo de esta hipótesis, se ha encontrado que pocos animales que han recibido un trasplante de médula adrenal (sólo 3 de un grupo de 40 ratas), presentan un decremento en la conducta de giro cuando se administra por separado apomorfina y anfetamina (Becker et al, 1990). Otro estudio demuestra que no existe correlación entre la disminución de la conducta de giro en animales que recibieron un trasplante de substancia negra, y el decremento que se observa en animales que recibieron un trasplante de médula

adrenal (Brown y Dunnett, 1989). En conjunto, estos resultados señalan que a pesar de ser agonistas dopaminérgicos, la apomorfina y la anfetamina no actúan en mecanismos equivalentes para producir la conducta de giro. Tampoco la disminución en la conducta de giro en animales con trasplante de sustancia negra o médula adrenal involucra mecanismos comparables. Por ello, los resultados que se obtuvieron en esta tesis, sólo pueden ser aplicables a la administración de apomorfina y los trasplantes de sustancia negra.

#### RESTRICCIÓN DE MOVIMIENTO.

La autorradiografía con [14 C]-2-DG se realizó de acuerdo al método reportado por Sokoloff et al (1977) quien utilizó animales concientes pero inmovilizados. De la misma manera, los animales que se emplearon en todos los grupos se inmovilizaron durante el procedimiento de administración de la [14 C]-2-DG. Otros trabajos han demostrado que la actividad metabólica de las estructuras que forman los ganglios basales, es similar en animales restringidos (Kozlowki y Marshall, 1980) ó no (Wooten y Collins, 1983) de movimiento, con lesión previa de 6-OHDA y estimulados con la administración sistémica de apomorfina. Por ello, se descarta la posibilidad de que los resultados obtenidos en este experimento pudieran ser influenciados por la prevención de la conducta de giro.

DIFERENCIA DE ACUERDO A LAS DOSIS DE APOMORFINA EN LOS  
GRUPOS NO LESIONADOS (SAL Y APO).

No se encontraron diferencias en ULGC entre los grupos SAL y APO. La dosis de apomorfina utilizada en este trabajo (0.25 mg/kg.), fue elegida de acuerdo al criterio de Ungerstedt (1971) para probar la conducta de giro en animales lesionados con 6-OHDA. En otros trabajos en los que se han utilizado dosis mayores de este agonista dopaminérgico, se encuentra un incremento en ULGC, que es dependiente de la dosis, en varias áreas cerebrales incluyendo los ganglios basales (Brown and Wolfson, 1978; Mc Culloch et al, 1982). Las dosis menores de 0.5 mg/Kg de apomorfina no inducen diferencias en ULGC con respecto a animales controles que reciben solución salina. (Mc Culloch et al, 1982).

GRUPO LES+SAL.

En los animales del Grupo LES+SAL no se encontraron cambios en ULGC en la áreas cerebrales que se estudiaron. La lesión electrolítica o con 6-OHDA del sistema dopaminérgico mesoestriatal tiene poco efecto en la actividad metabólica del estriado y otras estructuras (Schwartz, 1978; Sagar y Snodgrass, 1980). Por otro lado, Kozlowky y Marshall (1980, 1983) han reportado un incremento ipsilateral en la captura de [14-C]-2DG en GP, EP y SNR en un periodo de 3 a 15 días después de la lesión con 6-OHDA. Los animales del Grupo LES+SAL fueron sacrificados 90 días después de la lesión con 6-OHDA. Es posible que durante este tiempo ocurrió una recuperación parcial de la actividad dopaminérgica y por esta razón no se observaron cambios

## ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

en ULGC en este grupo. En apoyo de esta idea, se ha demostrado que los animales que se recuperan de la negligencia sensoriomotora producida por la lesión unilateral con 6-OHDA (6 semanas postlesión), no presentan cambios asimétricos en la captura de [14 C]-2-DG en el estriado anterior, GP y SNR (Kozlowski y Marshal, 1983). Otros estudios han demostrado que después de una lesión del sistema nigroestriatal con 6-OHDA, se produce un incremento en la síntesis y la liberación de dopamina así como un aumento en la velocidad de recambio en las terminales dopaminérgicas que no son destruidas (Zigmond et al, 1989). Estos cambios pueden conducir a una compensación funcional a largo plazo del sistema nigroestriatal (Zigmond et al, 1989). Estos datos podrían explicar la carencia de cambios en LGGU, que se observó en este grupo. En contraste, otros trabajos señalan que el GP presenta un incremento ipsilateral a la lesión con 6-OHDA en ULGC, hasta 104 días después de la lesión, mientras que el ST, SNR y EP no presentan cambios en el mismo periodo (Wooten and Collins, 1981). Sin embargo, estos autores señalan que el incremento en ULGC es más pequeño con respecto al grupo control a los 104 días que a los 21 días después de la lesión ; este resultado sugiere la existencia de un posible mecanismo compensatorio.

### ULGC EN EL ESTRIADO (ST).

La administración intraestriatal de dopamina en animales no lesionados produce un decremento de ULGC en el estriado (Brown y Wolfson, 1983), mientras que la administración sistémica o intraestriatal de apomorfina en animales con lesión unilateral

con 6-OHDA, incrementa ULGC en el estriado (Kozlowski y Marshall, 1980; Wooten y Collins, 1983); este incremento no se presenta si se administra haloperidol (Kozlowski y Marshall, 1980). Este último resultado señala que los cambios en ULGC son consecuencia de la estimulación de los receptores dopaminérgicos estriatales. Es importante destacar, que en estos estudios los cambios en ULGC en el estriado son ipsilaterales con respecto al sitio de administración o de lesión. Los resultados que se obtuvieron en ULGC en el estriado ipsilateral de los animales del Grupo LES+APO, son similares a los mencionados anteriormente. Un resultado semejante se observó en los animales que recibieron un trasplante no dopaminérgico y no disminuyeron su conducta de giro (Grupo LES+APO+NDA). En contraste, en los animales que recibieron trasplantes de sustancia negra (Grupo LES+APO+SN), se encontró un inesperado incremento en ULGC en el estriado contralateral a la lesión (Fig. V. 1). Es poco probable que este aumento se deba a la estimulación de los receptores dopaminérgicos por la apomorfina, ya que este efecto no se observó en ningún otro grupo, ni tampoco ha sido reportado en trabajos previos con animales lesionados con 6-OHDA y estimulados con apomorfina (Kozlowki y Marshall, 1980; Wooten y Collins, 1983). Tampoco se ha reportado un incremento en ULGC en el estriado contralateral de animales sin tratamiento experimental previo, después de la lesión electrolítica unilateral del estriado (Hosokawa et al, 1984); de la lesión unilateral con ácido kaínico (Kelly et al, 1982) o de la estimulación eléctrica unilateral de este núcleo (Aiko et al, 1988).

Otros estudios han demostrado que existe una regulación

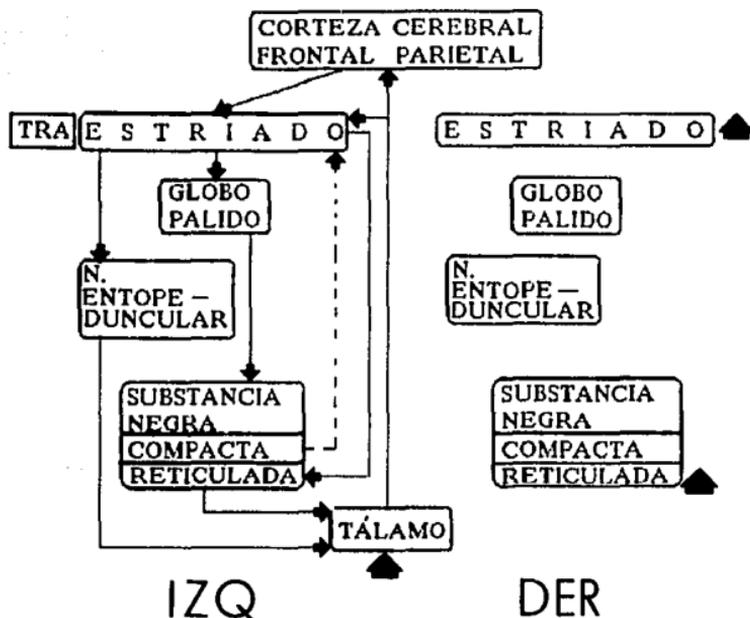


FIG. V. 1. ESTE ESQUEMA REPRESENTA LAS PRINCIPALES CONEXIONES ANATÓMICAS AFERENTES Y EFERENTES DEL ESTRIADO EN LA RATA (IZQ). LA VÍA DOPAMINERGICA NIGROESTRIATAL LESIONADA CON 6-OHDA SE ILUSTRAS CON LA LINEA -----, EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ UN TRASPLANTE DE SUBSTANCIA NEGRA (TRA) EN EL LADO IPSILATERAL A LA LESIÓN (GRUPO LES + APO + SN) ALGUNAS ESTRUCTURAS PRESENTARON UN INCREMENTO EN ULGC EN EL LADO CONTRALATERAL (DER) O EN AMBOS LADOS ( ▲ INDICA UN AUMENTO EN ULGC), VER TEXTO PARA MÁS DETALLES.

bilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal. La lesión unilateral de la substancia negra produce una disminución en la liberación de dopamina en el estriado ipsilateral, pero un incremento en la liberación de dopamina en el estriado contralateral (Glowiski et al, 1984). La aplicación unilateral de anfetamina en la substancia negra induce un incremento en la liberación de dopamina en esta área, mientras el estriado ipsilateral presenta un decremento; en tanto, en la substancia negra contralateral la liberación de dopamina disminuye, pero en el estriado contralateral aumenta (Cheramy et al, 1981). Los efectos opuestos asimétricos se observan después de la administración unilateral de alfa-metil-p-tirosina en la substancia negra (Cheramy et al, 1981). Las vías por las cuales estas relaciones interhemisféricas se establecen, aún no están bien establecidas. Se sabe que la sección de la masa intermedia talámica, evita estos cambios asimétricos en la liberación de dopamina (Glowiski et al, 1984). Es posible que el aumento en ULGC en el estriado contralateral refleje una influencia del trasplante de substancia negra fetal; esta influencia podría ser mediada a través de las vías que permiten las relaciones interhemisféricas del sistema nigroestriatal. Si esto es cierto, entonces el incremento en ULGC que se encontró en el estriado contralateral del Grupo LES+APO+SN, desaparecería por la sección de la masa intermedia talámica.

Por otro lado, existe la creencia de que la estimulación dopaminérgica del estriado denervado con 6-OHDA es un mecanismo importante para la expresión de la conducta de giro, mientras el

estriado contralateral parece tener poca o ninguna participación (Marshall y Ungerstedt, 1977). Sin embargo, en los últimos años algunos datos sugieren que esta idea no es correcta. La conducta de giro producida por la administración sistémica de apomorfina o la administración intraestriatal de dopamina, en animales con lesión unilateral con 6-OHDA, es disminuida o abolida respectivamente, por la lesión electrolítica del estriado no denervado (Costall et al, 1983). Se ha observado que en animales con lesión electrolítica en un estriado, la administración de dopamina en el estriado contralateral, no produce conducta de giro como se esperaría de acuerdo a la hipótesis de un desbalance dopaminérgico (Costall et al, 1983). Más sorprendente es el hecho de que si un estriado recibe una lesión electrolítica y el otro recibe una lesión química con 6-OHDA, la administración local de dopamina en el estriado denervado con 6-OHDA, no induce asimetría corporal o conducta de giro, como se esperaría de acuerdo a una hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos (Costall et al, 1983). Es importante señalar que las dosis de dopamina que se utilizaron en estos trabajos (50-200 ug) inducen conducta de giro en animales lesionados con 6-OHDA, pero sin ninguna manipulación en el estriado intacto (Costall et al, 1983). Estos datos destacan la importancia del estriado no lesionado para la expresión de la conducta de giro; además sugieren una reducción en la actividad dopaminérgica del estriado intacto. El incremento que se observó en ULGC en el estriado contralateral a la lesión con 6-OHDA (Grupo LES+APO+SN) podría reflejar un incremento en la actividad dopaminérgica estriatal, que sería importante para el decremento

en la conducta de giro. A partir de este hallazgo, se puede plantear que la participación del estriado no denervado es importante para el decremento en la conducta de giro.

#### ULGC EN LOS NUCLEOS EFERENTES DEL ESTRIADO (EP, GP Y SNR)

Se encontró un incremento en ULGC en SNR and EP, en el lado ipsilateral a la lesión, en los animales del Grupo 6-OHDA+APO. Este cambio representa un patrón asimétrico de ULGC con respecto al lado intacto contralateral. Otros estudios han utilizado el método de autorradiografía con [14C]-2-DG pero han usado un análisis cualitativo (densidad óptica). A pesar de ello, los resultados encontrados para SNR y EP en los animales del Grupo 6-OHDA+APO, son similares a los reportados por otros autores en animales con lesión unilateral de 6-OHDA y con administración sistémica de apomorfina (Korlowzki y Marshall, 1980; Wooten y Collins, 1983). Se encontró un patrón asimétrico en ULGC similar al del Grupo LES+APO, en animales que recibieron un trasplante de tejido no dopaminérgico y no disminuyeron la conducta de giro (Grupo LES+APO+NDA). La administración unilateral intrastriatal de dopamina en animales no lesionados (Brown y Wolfson, 1983), o la estimulación eléctrica unilateral en el estriado de animales intactos (Aiko et al, 1988), produce un patrón similar al que se encontró en SNR y EP en el presente trabajo. Este incremento ipsilateral en ULGC se atribuye al aumento en la actividad funcional de las vías estriado-nigral y estriado-entopeduncular, debido a la estimulación dopaminérgica estriatal (Korlowzki y Marsahll, 1980; Wooten y Collins, 1983). Para el caso de SNR, se ha demostrado que este núcleo tiene dos tipos de receptores

dopaminérgicos (D1 y D2) (Palacios y Pazos, 1987) y por ello no se puede descartar la posibilidad de que el aumento de ULGC que se observó en SNR ipsilateral, podría estar relacionado a la estimulación directa de los receptores dopaminérgicos de SNR por la apomorfina.

En los animales trasplantados con reducción en la conducta de giro (Grupo LES+APO+SN), se encontró un incremento ipsilateral en ULGC similar al observado en los Grupos LES+APO y LES+APO+NDA, para SNR y EP. Este resultado sugiere que el trasplante de sustancia negra no tiene efecto en estos dos núcleos eferentes del estriado. Sin embargo, se encontró un aumento en ULGC en la SNR contralateral al lado de la lesión (Fig. V. 1) que disminuyó la diferencia en ULGC entre la SNR ipsilateral y contralateral. También se observó en este grupo, una disminución que no fue significativa en la diferencia de ULGC entre el EP ipsilateral y contralateral. Por otra parte, un trabajo reciente demuestra que más del 80% de las células dopaminérgicas de una sustancia negra compacta, responden a la estimulación eléctrica de la sustancia negra contralateral (Castellano y Rodríguez Díaz, 1991). Al igual que otros estudios (Glowiski et al, 1984), este resultado demuestra la existencia de una regulación mutua de ambas sustancias negras compactas. Los estudios anatómicos ha demostrado que las dendritas de las células dopaminérgicas penetran a SNR (Carpenter, 1984). La lesión unilateral con 6-OHDA induce un incremento bilateral, aunque no significativo, en la actividad eléctrica de las células de SNR (Sanderson et al, 1986). Con base en estos datos, se puede plantear que la

actividad de una SNR puede estar relacionada a las células de la SNR contralateral. En apoyo de esta idea, se ha reportado que la estimulación eléctrica o la aplicación de muscimol en SNR, provoca un aumento en ULGC en la SNR contralateral (Savaki et al, 1983; Dermon et al, 1990). No existe una evidencia anatómica de una conexión directa de las 2 substancias negras; por ello estas relaciones deben involucrar conexiones multisinápticas. Como hipótesis de trabajo, se puede sugerir que los trasplantes de sustancia negra actúan sobre las células estriatales, que a su vez influirán a las células de la SNR ipsilateral encargadas de regular la actividad de la SNR contralateral. Si esto es cierto, entonces la interrupción de las fibras estriado-nigrales anularía el efecto en la SNR contralateral. Un estudio previo demuestra que la alteración de la actividad estriatal (lesión unilateral con ácido kainico) produce un incremento en ULGC en la SNR ipsilateral y contralateral, 10 días después de la lesión (Kelly et al, 1982). Este resultado sugiere que la actividad estriatal puede reflejarse en las células de la SNR contralateral.

Por otra parte, no se encontraron cambios asimétricos en ULGC en GP en los animales del Grupo LES+APO. En otros trabajos que han utilizado animales con lesión de 6-OHDA y estimulación sistémica con apomorfina, tampoco se han encontrado cambios asimétricos en ULGC en GP (Kozlowki y Marshall, 1980; Wooten y Collins, 1983). Una carencia de asimetría en ULGC, también se encontró en los animales de los Grupos LES+APO+NDA y LES+APO+SN. Otros estudios han reportado que la lesión unilateral con 6-OHDA produce un decremento en el número de receptores para opiáceos y GABA así como un decremento en la tasa de disparo de las células

del GP ipsilateral a la lesión (Pan et al, 1985; Pan y Walters, 1988). Estos últimos resultados sugieren que el sistema dopaminérgico nigroestriatal puede ejercer una influencia inhibitoria en las neuronas estriatales que proyectan al GP. Sin embargo, es difícil explicar porque la estimulación dopaminérgica estriatal con apomorfina no produce cambios en ULGC en GP en animales con lesión unilateral con 6-OHDA.

Schmidt et al, (1982) reportaron que el tejido fetal de sustancia negra que se coloca por encima del estriado dorsal en animales lesionados con 6-OHDA, produce una reducción en ULGC sólo en GP, ipsilateral al trasplante, sin afectar otras estructuras. Como ya se mencionó, en este trabajo los animales lesionados no fueron estimulados con agonistas dopaminérgicos. Aunque en el presente trabajo experimental no se utilizó un grupo trasplantado con administración de salina, se esperó que en los animales trasplantados y estimulados con apomofina (Grupo LES+APO+SN), de acuerdo a los resultados de Schimdt et al (1982), el GP hubiera presentado un mayor decremento en ULGC, pero no se encontró alguna asimetría. La carencia de asimetría que se encontró en GP en el presente trabajo, junto con otros reportes (Wooten and Collis, 1983; Scheel-Kruger, 1986; Klockgether et al, 1987) sugieren que la proyección estriatal al GP no esta controlada de misma manera que las proyecciones a EP y SNR. Los estudios farmacológicos en la rata han demostrado que la dopamina incrementa la actividad de la via estriado-EP y estriado-SNR pero decrementa la actividad de la eferente estriado-GP (Scheel-Krueger, 1986). En monos tratados con MTPT , se observa un

incremento en la tasa de disparo de las células del segmento interno de GP (EP en roedores), y un decremento en la tasa de disparo en las células del segmento externo de GP (De Long, 1990).

#### ULGC EN EL TALAMO (THA).

La administración sistémica de apomorfina en animales con lesión unilateral con 6-OHDA, produce un aumento en la captura de [14 C]-2-DG en los núcleos talámicos ventral-lateral y ventromedial, ipsilaterales a la lesión sin afectar el lado contralateral (Koslowki y Marshall, 1980). Sin embargo, la administración unilateral del agonista gabaérgico muscimol (150 ng) en la SNR, produce un incremento en ULGC en el tálamo contralateral (Dermon et al, 1990). Aunque no se cuantificó ULGC para cada núcleo talámico, se encontró una mayor actividad metabólica en el tálamo contralateral, en los Grupos LES+APO, LES+APO+NDA y LES+APO+SN. Las vías anatómicas que podrían explicar esta asimetría no son conocidas. En roedores, los estudios anatómicos han demostrado que EP manda conexiones eferentes ipsilaterales a los núcleos ventromedial y pararafascicular y al complejo anterior lateral-ventral del tálamo (Carter y Fibiger, 1979), mientras las conexiones eferentes ipsilaterales de SNR terminan en los núcleos ventromedial, pararafascicular y medialdorsalis (Beckstead et al, 1979; Di Chiara et al, 1979). A través de estas vías anatómicas, las manipulaciones experimentales que se realizan en el estriado, pueden modificar la actividad talámica. Por ejemplo, se ha descrito que la administración unilateral intraestriatal de

apomorfina o L-glutamato, produce un incremento en la tasa de disparo del núcleo ventromedial ipsilateral (Chevalier y Deniau, 1987); la inyección intraestriatal unilateral de ácido kainico produce un aumento bilateral en ULGC en el núcleo ventrolateral del tálamo (Kelly et al, 1982). Otros experimentos muestran que la inyección bilateral de haloperidol en el estriado anterior, de muscimol en el estriado medial o de betanecol en cualquiera de estas regiones estriatales, induce un incremento de la actividad electromiográfica del músculo gastronemio de la rata (Ellenbroek et al, 1986). Resultados similares a los mencionados se logran si el muscimol o baclofen se administran en el núcleo ventromedial del tálamo (Klockgether et al, 1987). Con base en estos datos, es posible que los cambios asimétricos que se encontraron en ULGC en el tálamo pudieran deberse a la estimulación estriatal dopaminérgica por la apomorfina o la acción de este fármaco sobre las células nigrotalámicas no dopaminérgicas de SNR.

Se encontró un gran incremento bilateral en ULGC en el tálamo de los animales que recibieron trasplante de sustancia negra (Grupo 6-OHDA+APO+SN) que no se observó en otros grupos (Fig. V. 1). Por otro lado, la apomorfina actúa en los receptores dopaminérgicos D1 y D2. Los estudios han mostrado que con excepción de los núcleos talámicos anteriores (núcleo anterodorsal), el resto de los núcleos talámicos no presentan marca radioactiva para agonistas selectivos de los receptores D1 y D2 (Martres et al, 1985; Dawson et al, 1985; Palacios y Pazos, 1987). Con base en estos resultados, es poco probable que el incremento en ULGC que se encontró en el tálamo se deba a una

estimulación de receptores dopaminérgicos por apomorfina. Este notable incremento fue un hallazgo inesperado; por ello los aspectos sensoriomotores no fueron evaluados en estos animales. Es posible que este aumento refleje una actividad sensoriomotora importante para el decremento de la conducta de giro. Es importante recordar que una hipótesis establece que la conducta de giro resulta de un aumento en la sensibilidad unilateral para los estímulos sensoriales (Pycoc, 1980).

Los estudios han establecido que algunos núcleos talámicos tienen una regulación bilateral del sistema dopaminérgico nigroestriatal. De esta manera, la estimulación eléctrica unilateral de los núcleos ventromedial o ventrolateral, induce efectos asimétricos en la liberación de dopamina en la sustancia negra compacta (Glowinski et al, 1984). Por otro lado, diversos estudios señalan los núcleos intralaminares (núcleos parafascicular y centromediano) que reciben información de SNR y EP y los núcleos talámicos de la línea media (núcleos interanteromedialis y reunien) los cuales no tiene relación directa con estructuras de los ganglios basales, están involucrados en la regulación bilateral de la liberación de dopamina en el sistema nigroestriatal (Romo et al, 1983; Kilpatrick et al, 1986). Es importante señalar que el incremento bilateral en ULGC que se encontró en el tálamo, no está restringido a un núcleo talámico específico. Por ello, es posible que el aumento en ULGC que se encontró en SNR y ST contralateral, se deban en parte, al incremento en la actividad talámica.

## ULGC EN OTRAS AREAS CEREBRALES

Como se mencionó al principio de esta tesis, el núcleo de la habénula lateral (LHN) recibe una inervación gabaérgica del EP (Scheel-Krueger, 1986). Los trabajos previos con animales lesionados con 6-OHDA y estimulados con apomorfina, muestran que LHN presenta una disminución en ULGC en el lado ipsilateral, mientras que en el lado contralateral se presenta un incremento (Kozlowki y Marshall, 1980; Wooten y Collins, 1983). Resultados similares, se encontraron en los Grupos LES+APO y LES+APO+NDA. Es posible que estos cambios sean consecuencia de la estimulación dopaminérgica estriatal. En apoyo de esta sugerencia se ha encontrado que la lesión unilateral del estriado induce un incremento ipsilateral en ULGC en LHN (Kelly et al, 1982). Sin embargo, debido a la presencia de receptores dopaminérgicos D1 y D2 en este núcleo (Palacios y Pazos, 1987), no se puede descartar la posibilidad de que los cambios asimétricos en ULGC sean debidos a la estimulación directa de estos receptores por la apomorfina. En cuanto al grupo LES+APO+SN, esta asimetría se mantuvo; sin embargo, no fue significativa debido a la variabilidad en los valores de ULGC.

En relación a la corteza fronto parietal (CX), los animales del Grupo LES+APO+SN fueron los únicos que presentaron una asimetría significativa en ULGC. Es posible que este efecto se deba al incremento en la actividad talámica (Fig. V. 1). No se encontraron cambios asimétricos en ULGC en ninguno de los grupos para la amígdala (AMY). Este resultado sugiere que los cambios

asimétricos en ULGC son específicos para algunas áreas cerebrales.

Los resultados del presente trabajo experimental muestran que los trasplantes de substancia negra tienen una influencia más allá del lugar donde se colocan. En apoyo de esta idea, los estudios recientes han mostrado que el trasplante de substancia negra fetal que se coloca en el estriado intacto, en animales con lesión unilateral con 6-OHDA, induce un decremento en la conducta de giro después de la administración de apomorfina (Mendoza-Ramírez et al, 1991). Este tipo de trasplante produce una recuperación de la supersensibilidad de los receptores dopaminérgicos D1 no sólo en el estriado y sino también en la substancia negra reticulada (Dawson et al, 1991).

Por otro lado, los resultados obtenidos en un modelo animal de la enfermedad de Huntington, parecen apoyar la idea de una influencia más allá del lugar donde se coloca el trasplante para otro tipo de tejido. En ratas anestesiadas, la lesión unilateral del estriado con ácido iboténico, produce una reducción en la liberación de GABA en GP y SNR, que es revertida por los trasplantes de células estriatales fetales (Sirinathshingji et al, 1988). Este tipo de lesión induce un incremento en ULGC en los núcleos eferentes del estriado, que es reducida por los trasplantes fetales de células estriatales en GP, núcleo subtalámico y colículo superior, pero no afecta a EP, SNR y el núcleo de la habénula lateral (Isaccson et al, 1984). Es importante destacar que en este último trabajo, se observó una recuperación en ULGC en áreas que no son consideradas eferentes estriatales (Isaccson et al, 1984).

## VI.- CONCLUSIONES

"The existence of human brain in lower animals also excites speculations from a purely philosophical standpoint. On the assumption that the human brain is the seat of the intellect, some alteration might be expected in the behavior of guinea pigs bearing such transplants. However, observation has shown no change suggestive of higher faculties. In fact, the only variation differentiating a guinea pig bearing a human brain from a normal pig is a marked increase in libido."

H. S. N. Greene and H. Arnold  
J. of Neurosurg. 2:315-331, 1945.

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis se puede concluir que:

1) Los cambios en ULGC que se reportan, reflejan la influencia que tienen los trasplantes de substancia negra más allá del lugar donde se colocan.

2) Los trasplantes de substancia negra tienen un efecto bilateral, ya que disminuyen la asimetría en ULGC en ST, SNR y LHN en animales lesionados con 6-OHDA y estimulados con apomorfina. Es posible que este efecto bilateral se extienda a otras áreas cerebrales relacionadas con los ganglios basales (vgr. el núcleo subtalámico). Por otro lado, este efecto bilateral ayudaría a explicar la mejoría que se obtiene en ambos lados del cuerpo en pacientes con enfermedad de Parkinson que han recibido un trasplante de substancia negra.

3) Es posible que los trasplantes de substancia negra se incorporen a los mecanismos que regulan la actividad interhemisférica de ambos sistema dopaminérgicos nigroestriatales.

## REFERENCIAS

- Aiko, Y., S. Hosokawa, F. Shima, M. Kato y K. Kitamura. Alterations in local cerebral glucose utilization during electrical stimulation of the striatum and globus pallidus in rats. Brain Res. Vol. 442:43-52, (1988).
- Amemori, T., I. V. Ermaikova, O. Buresova, T. Zigova, E. Racekova y J. Bures. Brain transplants enhance rather than reduce the impairment of spatial memory and olfaction in bulbectomized rats. Behavioral Neuroscience Vol. 103, No.1:61-70, (1989).
- Anden, N.-E., A. Dahlstrom, K. Fuxe y K. Larsson. Functional role of the nigro-neostriatal dopamine neurons. Acta Pharmac. Tox. Vol. 24:263-274, (1966).
- Arbuthnott, G., S. Dunnett y N. MacLeod. Electrophysiological properties of single units in dopamine rich mesencephalic transplants in rat brain. Neuroscience Letts. Vol. 57:205-210, 1985.
- Backlund, E. O., P. Granberg, B. Hamberger, E. Knutsson, A. Martensson, G. Sedvall, A. Seiger y L. Olson. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. J. of Neurosurg. Vol. 62:169-173, (1985).
- Barker, C. F. y R. E. Billingham. Immunologically privileged sites. Adv. in Immunology. Vol. 25:1-54, (1977).
- Becker, J. B. y W. J. Freed. Neurochemical correlates of behavioral changes following intraventricular adrenal medulla grafts: intraventricular microdialysis in freely moving rats. Progress in Brain Res. Vol. 78:527-533, (1988).
- Becker, J. B., E. J. Curran y W. J. Freed. Adrenal Medulla graft induced recovery of function in an animal model of Parkinson's disease: possible mechanisms of action. Canadian J. of Psychology. Vol. 44, No.2:293-310, (1990).
- Beckstead, R. M., V. B. Domesik y W. J. H. Nauta. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. Brain Res. Vol. 175:191-217, (1979).
- Bjorklund, A. y U. Stenevi. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. Brain Res. Vol. 177:555-560, (1979).

- Bjorklund, A., S. B. Dunnett, U. Stenevi, M. E. Lewis, y S. D. Iversen. Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensoriomotor testing. Brain Res. Vol. 199:307-333, (1980a).
- Bjorklund, A., R. H. Schmidt y U. Stenevi. Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchymal grafting of dissociated cell suspensions from the substantia nigra. Cell and Tissue Research. Vol. 212:39-45, (1980b).
- Bjorklund, A., U. Stenevi, R. H. Schmidt, S. B. Dunnett y F. H. Gage. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. I.- Introduction and general methods of preparation. Acta Physiol. Scandinavica. Suppl. 522:1-7, (1983).
- Bjorklund, A., P. Brundin y O. Isacson. Neuronal replacement by intracerebral neural implants in animals models of neurodegenerative disease. En: Functional recovery in neurological disease Adv. in Neurology. Vol. 47, S. G. Waxman (edt.), Raven Press, 455-492 pp., (1988).
- Bjorklund, A. y U. Stenevi (Eds). Neural grafting in the mammalian CNS. Fernstrom Foundation Series. Vol. 5. Elsevier Science Publishers. The Netherlands, (1985).
- Bjorklund, A., O. Lindvall, O. Isacson, P. Brundin, K. Wictorin, R. E. Strecker, D. J. Clarke y S. B. Dunnett. Mechanisms of action of intracerebral neural implants: Studies on nigral and striatal grafts to the lesioned striatum. Trends in Neuroscience. Vol. 10, No. 12:509-516, (1987).
- Bjorklund, A. Neural transplantation: an experimental tool with clinical possibilities. Trends in Neuroscience. Vol. 14, No. 8:319-322, (1991).
- Bolam, J. P., T. F. Freund, A. Bjorklund, S. B. Dunnett y A. D. Smith. Synaptic input and local output of dopaminergic neurons in grafts that functionally reinnervated the host striatum. Expe. Brain Res. Vol. 68:131-146, (1987).
- Bracha, H. S. C. Shults, S. D. Glick y J. E. Kleinman. Spontaneous asymmetric circling behavior in hemiparkinsonism. A human equivalent of the lesioned circling rodent behavior. Life Sci. Vol. 40, No. 11:1127-1130, (1987).
- Brown, L. L. y L. I. Wolfson. Apomorphine increases glucose utilization in the substantia nigra, subthalamic nucleus and corpus striatum of the rat. Brain Res. Vol. 140:188-193, (1978).

- Brown, L. L. y L. I. Wolfson. A dopamine-sensitive striatal efferent system mapped with [<sup>14</sup>C]-deoxyglucose in the rat. Brain Res. Vol. 261:213-229, (1983).
- Brown, V. J. y S. B. Dunnett. Comparison of adrenal and foetal nigral grafts on drug-induced rotation in rats with 6-OHDA lesions. Exp. Brain Res. Vol. 78:214-218, (1989).
- Brundin, P., O. G. Nilsson, F. H. Gage y A. Bjorklund. Cyclosporin A increases survival of cross-species intrastriatal grafts of embryonic dopamine containing neurons. Exp. Brain Res. Vol.60:204-208, 1985.
- Buzzsaki, G., F. Bayardo, R. Miles, R. K. S. Wong y F. H. Gage. The grafted hippocampus: an epileptic focus. Exp. Neurology. Vol.105:10-22, (1989).
- Buzzsaki, G. T. Freund, A. Bjorklund y F. H. Gage. Restoration and deterioration of function by brain grafts in the septohipocampal system. Progress in Brain Res. Vol.78:69-77, (1988).
- Carpenter, M. B. Interconnections between the corpus striatum and the brain stem nuclei. En: The Basal Ganglia. Structure and Function. J. S. McKenzie, R. E. Kemm y L. N. Wilcok. Plenum Press, 1-68, (1984).
- Carter, D. A. y H. C. Fibiger. The projections of the entopeduncular nucleus and globus pallidus in the rat as demonstrated by autoradiography and horseradish peroxidase histochemistry. J. Comp. Neurolo. Vol.177: 113-124, (1978).
- Casas, M. S. Ferre, A. Cobos, J. Cadafalch, J. M. Grau y F. Jane. Comparison between apomorphine and amphetamine induced rotational behavior in rats with a unilateral nigrostriatal pathway lesion. Neuropharmacology Vol. 27, No.6:657-659, (1988).
- Castellano, M. A. y M. Rodriguez-Diaz. Nigrostriatal dopaminergic cell activity is under control by substantia nigra of the contralateral brain side: electrophysiological evidence. Brain Res. Bulletin. Vol. 27:213-218, (1991).
- Cools, A. R., W. Scheenen, D. Eilam y I. Golani. Evidence that apomorphine and (+)-amphetamine produce different types of circling in rats. Behavioral Brain Res. Vol.34:111-116, (1989).
- Costall, B., M. E. Kelly y R. J. Naylor. Does contralateral circling involve action of drugs on hyposensitive striatal dopamine receptors in the hemisphere contralateral to denervation? Neuropharmacology Vol. 22, No.3A:295-302, (1983).

- Cotman, C. W., M. Nieto-Sampedro, y S. R. Whitemore. Relationships between neurotrophic factors and transplant-host integration. En: Neural Grafting in the Mammalian CNS. A. Bjorklund y U. Stenevi (Eds.) Elsevier Science Pub. Amsterdam, 169-177, (1985).
- Cotman, C. W. y P. J. Kesslak. The role of trophic factors in behavioral recovery and integration of transplants. Progress in Brain Res. Vol. 78:311-319, (1988).
- Creese, I., D. R. Burt y S. H. Snyder. Dopamine receptor binding enhancement correlates with lesion-induced behavioral supersensitivity. Science. Vol. 197:596-598, (1977).
- Cheramy, A., V. Leviel, F. Daudet, B. Guibert, M. F. Chesselet y J. Glowinski. Involvement of the thalamus in the reciprocal regulation of the two nigrostriatal dopaminergic pathways. Neuroscience. Vol. 6, No. 12:2657-2668, 1981.
- Chevalier, G. y J. M. Deniau. Functional significance of a double gabaergic inhibitory link in the striato-nigro-fugal pathways. En: Neurotransmitter interactions in the basal ganglia. M. Sandler (Ed). Raven Press, New York. (1987).
- Chiueh, C. C. Dopamine in the extrapyramidal motor function. A study based upon the MPTP-induced primate model. Annals of the New York Aca. of Sci. Vol.515:226-238, (1988).
- Das, G. D. y J. Altman. Transplanted precursors of nerve cells: their fate in the cerebellums of young rats. Science. Vol. 173:637-638, (1971).
- Dawson, T. M., D. R. Gehlert, H. I. Yamamura, A. Barnett y J. K. Wamsley. D-1 dopamine receptors in the rat brain: autoradiographic localization using [<sup>3</sup>H]-SCH23390. Eur.J. of Pharma.Vol.108:323-325, (1985).
- Dawson, T. M., V. L. Dawson, F. H. Gage, L. J. Fisher, M. R. Hunt y J. K. Wamsley. Functional recovery of supersensitive dopamine receptors after intrastriatal grafts of fetal substantia nigra. Exp. Neuro. Vol. 111:282-292, (1991).
- De Long, M. Primate models of the movement disorders of the basal ganglia origin. Trends in Neuroscience. Vol. 13, No.7:281-285, (1990).
- Derman, C., R. P. Pizarro, P. Georgopoulos y H. Savaki. Bilateral alterations in local cerebral glucose utilization following intranigral application of the gabaergic agonist muscimol. J. of NeuroscienceVol. 10, No. 9:2861-2878 (1990).

- Dewar, D., P. Jenner y C. D. Marsden. Lesions of the globus pallidus, entopeduncular nucleus and substantia nigra alter dopamine mediated circling behaviour. Exp. Brain Res. Vol. 52:281-292, (1983).
- Di Chiara, G., M. L. Porcedu, M. Morelli, M. L. Mulas y G. L. Gessa. Evidence for gabaergic projection from substantia nigra to the ventromedial thalamus and to the superior colliculus of the rat. Brain Res. Vol. 176:273-289, (1979).
- Doty, R. L., M. Riklan, D. A. Deems, C. Reynolds y S. Stellar. The olfactory and cognitive deficits of Parkinson's disease: evidence for independence. Ann. Neurol. Vol. 25:166-171, (1989).
- Doucet, G., Y. Murata, P. Brundin, O. Bosler, N. Mons, M. Geffard, C. Ouiment y A. Bjorklund. Host afferents into intrastriatal grafts of ventral mesencephalon. Restorative Neurology and Neuroscience. Vol. 1, No.2:151, (1990).
- Drucker-Colin, R. F. Garcia-Hernandez, J. L. Mendoza-Ramirez, M. T. Pachecho y B. R. Komisaruk. Possible mechanisms of action of adrenal transplants in Parkinson's disease. Progress in Brain Res. Vol. 82:509-514, (1990).
- Duncan, G. E., R. G. Kaldas, K.E. Mitra, G. R. Breese y W. E. Stumpf. High activity neurons in the reticular formation of the medulla oblongata: a high resolution autoradiographic 2-Deoxyglucose study. Neuroscience Vol. 35 No.3:593-300 (1990).
- Dunnett, S. B., A. Bjorklund, U. Stenevi y S. D. Iversen. Behavioural recovery following trasplantations of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. I.- Unilateral lesions. Brain Res. Vol. 215:147-161, (1981a).
- Dunnett, S. B., A. Bjorklund, U. Stenevi, y S. Iversen. Grafts of embryonic substantia nigra reinnervating the ventrolateral striatum ameliorate sensoriomotor impairments and akinesia in rats with 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. Brain Res. Vol. 229:209-217, (1981b).
- Dunnett, S. B., W. C. Low, S. D. Iversen, U. Stenevi, y A. Bjorklund. Septal transplants restore maze learning in rats with fornix-fimbria lesions. Brain Res. Vol. 251:335-348, (1982).
- Dunnett, S. B., A. Bjorklund, R. H. Schmidt, U. Stenevi, y S. D. Iversen. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. IV.- Behavioral recovery in rats with unilateral 6-OHDA lesions following implantation of nigral cells suspensions in different forebrain sites. Acta Physiol. Scan. Suppl. 522:29-37, (1983).

- Dunnet, S. B., A. Bjorklund, R. H. Schmidt, U. Stenevi y S. D. Iversen. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. V.- Behavioral recovery in rats with bilateral 6-OHDA lesions following implantation of nigral cell suspensions. Acta Physiol. Scan. Suppl.522:39-47, (1983).
- Dunnett, S. B., I. Q. Whishaw, G. H. Jones y O. Isacson. Effects of dopaminergic-rich grafts on conditioned rotation in rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesions. Neuroscience Lett. Vol. 68:127-133, (1986).
- Dunnett, S. B. y A. Bjorklund. Mechanisms of function of neural grafts in the adult mammalian brain. J. Exp. Biol. Vol.32:265-289, (1987).
- Dunnett, S. B., C. N. Ryan, P. D. Levin, M. Reynolds y S. T. Bunch. Functional consequences of embryonic neocortex transplanted to rats with prefrontal cortex lesions. Behavioral Neuroscience. Vol. 101, No. 4:489:503, (1987).
- Dunnett, S. B., T. D. Hernández, A. Summerfield, G. H. Jones y G. Arbuthnott. Graft-derived recovery from 6-OHDA lesions: specificity of ventral mesencephalic graft tissues. Exp. Brain Res. Vol. 71:411-424, (1988).
- Dunnett, S. B. y S. J. Rhichards (Eds). Neural transplantations: from molecular basis to clinical applications. Progress in Brin Res. Vol. 82. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, (1990).
- Ellenbroek, B., T. Klockgether, L. Turski y M. Schwarz. Distinct sites of functional interaction between dopamine, acetylcholine and gamma-aminobutyrate within the neostriatum: an electromyographic study in rats. Neuroscience. Vol. 17, No. 1:79-88, (1986).
- Eriksdotter-Nilsson, M. y L. Olson. Growth of brain tissue grafts is depend upon host age. Mechanisms of ageing and development. Vol. 49:1-22, (1989).
- Fahn, S. y P. Duffy. Parkinson's disease. En: Scientific Approaches to clinical neurology. E. S. Goldensohn y S. H. Appel (EDS). Lea and Febiger, Philadelphia, 1119-1158, (1977).
- Feuerstein, C., P. Demenge, P. Carori, G. Barrette, B. Guerin y P. Mouchet. Supersensivity time course of dopamine antagonist binding after nigrostriatal denervation: evidence for early and drastic changes in the rat corpus striatum. Brain Res. Vol. 226:221-234, (1981).

- Fisher, L. J., S. J. Young, J. M. Tepper, P. M. Groves and F. H. Gage. Electrophysiological characteristic of cells within mesencephalon suspension grafts. Neuroscience. Vol. 40, No. 1:109-122, (1991).
- Forni, C., P. Brundin, R. E. Strecker, S. Elganouni, A. Bjorklund y A. Nieoullon. Time-course of recovery of dopamine neuron activity during reinnervation of the denervated striatum by fetal mesencephalic grafts as assessed by in vivo voltammetry Exp. Brain Res. Vol. 76:75-87, (1989).
- Fray, P. J., S. B. Dunnett, S. D. Iversen, A. Bjorklund, y U. Stenevi. Nigral transplants reinnervating the dopamine-depleted neostriatum can sustain intracranial self-stimulation. Science. Vol. 219:416-419, (1983).
- Freed, C. R., R. E. Breeze, N. C. Rosenberg, S. A. Schneck, T. H. Wells, J. N. Barrett, S. T. Grafton, J. C. Mazziota, D. Eidelberg y D. A. Rottenberg. Therapeutic effects of human fetal dopamine cells transplanted in a patient with Parkinson's disease. Progress in Brain Res. Vol. 82:715-721, (1990).
- Freed, W. J. Transplantation of tissues to the cerebral ventricles: methodological details and rate of graft survival. En: Neural Grafting in the mammalian CNS. A. Bjorklund y U. Stenevi (Eds). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 31-40, (1985).
- Freed, W. J. Functional brain tissue transplantation: reversal of lesion-induced rotation by intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts, with a note on intracranial retina grafts. Biol. Psychiatry. Vol. 18, No.11:1205-1267, (1983).
- Freed, W. J., M. J. Perlow, F. Kardum, A. Seiger, L. Olson, B. J. Hoffer y R. J. Wyatt. Restoration of dopaminergic function by grafting of fetal rat substantia nigra to the caudate nucleus: long-term behavioral, biochemical and histochemical studies. Ann. Neurol. Vol. 8: 510-519, (1980).
- Freed, W. J., J. M. Morihisa, F. Spoor, B. J. Hoffer, L. Olson, A. Seiger y R. J. Wyatt. Transplanted adrenal chromaffin cells in the rat brain reduce lesion-induced rotational behaviour. Nature. Vol. 292:351-352, (1981).
- Freed, W. J., L. Olson, G. N. Ko, J. M. Morihisa, D. Niehoff, I. Stromberg, M. Kuhar, B. J. Hoffer y R. J. Wyatt. Intraventricular substantia nigra and adrenal medulla grafts: mechanisms of action and [3H] spiroperidol autoradiography. En: Neural grafting in the mammalian CNS. A. Bjorklund y U. Stenevi (Eds). Amsterdam, Elsevier Sci. Pub., 471-489, (1985).

- Freed, W. J., E. Cannon-Spoor y E. Krauthamer. Intrastratial adrenal medulla grafts in rats. J. of Neurosurgery. Vol. 65:664-670, (1986).
- Freed, W. J., G. N. Ko, D. L. Niehoff, M. J. Kuhar, B. J. Hoffer, L. Olson, H. E. Cannon-Spoor, J. M. Morihisa y R. J. Wyatt. Normalization of spiroperidol binding in the denervated rat striatum by homologous grafts of substantia nigra. Science. Vol. 222:937-939, (1983).
- Freed, W. J. y H. E. Cannon-Spoor. Cortical lesions increase reinnervation of the dorsal striatum by substantia nigra grafts. Brain Res. Vol. 446:133-143 (1988).
- Freund, T. F., J. P. Bolam, A. Bjorklund, U. Stenevi, S. B. Dunnett, J. F. Powell y A.D. Smith. Efferent synaptic connections of grafted dopaminergic neurons reinnervating the host neostriatum: a tyrosine hydroxylase immunocytochemical study. J. of Neuroscience. Vol. 5: 603-616, (1985).
- Gage, F.H., A. Bjorklund, U. Stenevi y S. B. Dunnett. Intracerebral grafting of neuronal cell suspensions. VIII.- Survival and growth of implants of nigral and septal cell suspensions in intact brain of aged rats. Acta Physiol. Scand. Suppl. 522:67-75, (1983a).
- Gage, F. H., S. B. Dunnett, U. Stenevi, y A. Bjorklund. Aged rats: recovery of motor impairments by intrastratial grafts. Science. Vol. 221:966-969, (1983b).
- Gage, F. H., A. Bjorklund, U. Stenevi, S. B. Dunnett y P. A. T. Kelly. Intrahipocampal septal grafts ameliorate learning impairments in aged rats. Science. Vol. 225:533-535, (1984).
- Gage, F. H., U. Stenevi, T. Carlstedt, G. Foster, A. Bjorklund y A. J. Aguayo. Anatomical and functional consequences of grafting mesencephalic neurons into a peripheral nerve bridge connected to the denervated striatum. Exp. Brain Res. Vol. 60:584-589, (1985).
- Gage, F. H., y G. Buszaki. CNS grafting: potential mechanisms of action. En: Neural regeneration and trasplantation. F. J. Seil (Ed). Frontiers of clinical neuroscience. Vol. 6 New York, Alan R. Liss. Inc. 211-226, (1989).
- Gage, F. H. y L. J. Fisher. Intracerebral grafting: a tool for the neurobiologist. Neuron. Vol. 6:1-12 (1991).
- Gash, D. y J. Sladek. Vasopressin neurons grafted into the Battelboro rats: viability and activity. Peptides. Vol. 1: 11-14, (1980).

- Gash, D. M. y J. Sladek (Eds). Transplantation into the mammalian central nervous system. Progress in Brain Res. Vol. 78. New York, Elsevier. (1978).
- Gaudin, D. P., L. Rœux y P. J. Bedard. Fetal dopamine neuron transplants prevent behavioral supersensitivity induced by repeated administration of L-dopa in the rat. Brain Res. Vol. 506:166-168, (1990).
- German, D. C. y Miller, J. D. A system for chronic single-unit recording in the behaving rat. Brain Res. Bulletin Vol. 8: 539-542, (1982).
- Girault, J. A., H. E. Savaki, M. Delban, J. Glowinski y M. J. Besson. Bilateral cerebral metabolic alterations following lesion of the ventromedial thalamic nucleus: mapping by the [<sup>14</sup>C]-2-Deoxyglucose method in conscious rats. J. Comp. Neurol. Vol. 231:137-149, (1985).
- Girault, J. A., H. E. Savaki, M. Delban, J. Glowinski y M. J. Besson. Consequences de la lesion du noyau ventromedian du thalamus sur le metabolisme cerebral. Res. Neurol. vol. 142, No.4:456-464, (1986).
- Glowinski, J., M. J. Besson y A. Cheramy. Role of the thalamus in the bilateral regulation of dopaminergic and gabaergic neurons in the basal ganglia. En: Functions of the basal ganglia. D. Evered y M. O'Connor (Eds). Ciba Foundation Symposium 107, London Pitman, 150-160, (1984).
- Goetz, C. G., G. T. Stebbins III, H. L. Klawans, W. C. Koeller, A. R. Grossman, R. A. Bakay, R. D. Penn y The United Parkinson's Foundation Neural Transplantation Registry. Progress in Brain Res. Vol. 82: 611-617, (1990).
- Graham, W. C., A. R. Crossman, y G. N. Woodruff. Autoradiographic studies in animals models of hemiparkinsonism reveal dopamine D2 but not D1 receptor supersensitivity. I. 6-OHDA lesions of ascending mesencephalic dopaminergic pathways in the rat. Brain Res. Vol. 514: 93-102, (1990).
- Greene, H. S. N. y H. Arnold. The homologous and heterologous transplantation of brain and brain tumors. J. Neurosurg. Vol. 2:315-331, (1945).
- Hamel, E. y A. Beaudet. Ultrastructural distribution of mu opioid receptors in rat neostriatum. En: Neurotransmitter interactions in the basal ganglia. M. Sandler et al (Eds). New York, Raven Press, 59-69, (1987).
- Hand, P. J. The 2-Deoxyglucose method. En: Neuroanatomical tract-tracing. L. Heimer y M. J. Robards (Eds). New York, Plenum Press, 511-538, (1981).

- Hassan, M. N. Y J. H. Thakar. Dopamine receptors in Parkinson's disease. Prog. Neuro-Psychopharmac. and Biol. Psychiat. Vol. 12:173-182, (1988).
- Hefti, F., J. Hartikka y M. Schlumpf. Implantation of PC12 cells into the corpus striatum of rats with lesions of the dopaminergic nigrostriatal neurons. Brain Res. Vol. 348:283-288, (1985).
- Heikkila, R. E., B. A. Sieber, L. Manzino y P. K. Sonsalia. Some features of the nigrostriatal dopaminergic neurotoxin 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6,-Tetrahydropyridine (MPTP) in the mouse. Molecular and Chemical Neuropatology. Vol. 10:171-183, (1989).
- Heikkila, R. E. y G. Cohen. 6-Hydroxydopamine: evidence for superoxide radical as an oxidative intermediate. Science. Vol. 181:456-457, (1973).
- Heimer, L. G., G. F. Alheid y L. Zaborsky. Basal Ganglia. En: The Rat Nervous System. Vol. 1, Forebrain and Midbrain. G. Paxinos (Ed), Sydney, Academic Press, 37-86, (1985).
- Herrera-Marschitz, M., H. Utsumi y U. Ungerstedt. Scoliosis in rats with experimentally induced hemiparkinsonism: dependence upon striatal dopamine denervation. J. of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry Vol. 53:39-43, (1990).
- Herman, J. P., A. Lupp, N. Abrous, M. Le Moal, G. Hertting y R. Jackisch. Intra-striatal dopaminergic grafts restore inhibitory control over striatal cholinergic neurons. Exp. Brain Res. Vol. 73:236-240, (1988).
- Herman, J. P., K. Choulli y M. Le Moal. Hyper-reactivity to amphetamine in rats with dopaminergic grafts. Exp. Brain Res. Vol. 60:521-526, (1985).
- Hornykiewicz, O. y S. J. Kish. Biochemical, pathophysiology of Parkinson's disease. En: Adv. in Neurology Vol. 45. M. D. Yahr y K. J. Bergman (Eds). New York, Raven Press, 19-34, (1986).
- Hosokawa, S., M. Kato, F. Shima, S. Tobimatsu y Y. Kuroiwa. Local Cerebral Glucose Utilization altered in rats with unilateral electrolytic striatal lesions and modification by apomorphine. Brain Res. Vol. 324:59-68, (1984).
- Hyman, C. M., M. Hofer, Y. A. Barde, M. Juhasz, G. D. Yancopoulos, S. P. Squino y R. M. Lindssay. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. Nature. Vol. 350: 230-232, (1991).

- Isacson, O., P. Brundin, P. A. T. Kelly, F. H. Gage y A Bjorklund. Functional neuronal replacement by grafted striatal neurons in the ibotenic acid-lesioned rats striatum. Nature. Vol. 311:(1984).
- Jankovic, J. Pathophysiology and clinical assessment of motor symptoms in Parkinson's disease. En: Handbook of Parkinson's disease. W. C. Koeller (Ed). Marcel Dekker, 99-126, (1987).
- Jiao, S., W. Zhang, J. Cao, Z. Zhang, H. Wang, M. Ding, J. Sun, Y. Sun y M. Shi. Study of adrenal medullary tissue transplantation to striatum in Parkinsonism. Progress in Brain Res. Vol. 78:575-580, (1988).
- Jonsson G. Chemical lesioning techniques: monoamine neurotoxins. En: Handbook of chemical neuroanatomy. Vol I. Methods in chemical neuroanatomy. A. Bjorklund y T. Hokfelt (Eds). Elsevier Science Publishers, 463-507, (1983).
- Kadekaro, M., A. M. Crane, y L. Sokoloff. Differential effects of electrical stimulation of sciatic nerve on metabolic activity in spinal cord and dorsal root ganglion in the rat. Proc. Nat. Acad. of Sci. Vol. 82:6010-6013, (1985).
- Kelly, P. A., D. I. Graham y J. McCulloch. Specific alterations in local glucose utilization following striatal lesions. Brain Res. Vol. 233:157-172, (1982).
- Kilpatrick, I. C. y O. T. Phillipson. Thalamic control of dopaminergic functions in the caudate-putamen of the rat. I.- The influence of electrical stimulation of the parafascicular nucleus on dopamine utilization. Neuroscience. Vol. 19, No.3:965-978, (1986).
- Kish, S. J., K. Shannak y O. Hornykiewicz. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease. N. England J. of Medicine. Vol. 318:No. 14, 876-880, (1988).
- Klockgether, T., M. Schwarz, L. Torski, C. Ikonomidou-Turski, K. Ossowska, C. Heim, W. Turski, U. Wullner y K. H. Sontag. Neurotransmitter in the basal ganglia and motor thalamus: their role for the regulation of muscle tone. En: Basal ganglia: structure and function II. M. Carpenter y J. Rao (eds). New York, Plenum Press. (1987).
- Koller, W. C. Sensory symptoms in Parkinson's disease. Neurology. Vol. 34:957-959, (1984).
- Koning, J. F. R. y R. A. Klippel. The rat brain. William and Wilkins Co. Baltimore, 1-5, (1963).

- Kopin, I. J. y S. P. Markey. MPTP toxicity: implications for research in Parkinson's disease. Ann. Rev. of Neurosci. Vol. 11, 81-96, (1988).
- Kozlowski, M. R. y J. F. Marshall. Plasticity of [14C]-2-Deoxy-D-glucose incorporation into neostriatum and related structures in response to dopamine neuron damage and apomorphine replacement. Brain Res. Vol. 197:167-183, (1980).
- Kozlowski, M. R. y J. F. Marshall. Recovery of function and basal ganglia [14C]-2-Deoxyglucose uptake after nigrostriatal injury. Brian Res. Vol. 259:237-248, (1983).
- Langston, J. W., I. Irwin y G. A. Ricaurte. Neurotoxins, Parkinsonisms and Parkinson's disease. Pharmac. Ther. Vol. 32:19-49, (1987).
- Langston, J. W., P. Ballard, J. Tetrad y I. Irwin. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science. Vol. 219:979-980, (1983).
- Landau, W. M. Artificial intelligence: the brain transplant cure for parkinsonism. Neurology. Vol. 40:733-740, (1990):
- Lewin, R. Cloud over Parkinson's therapy. Science. Vol. 240:390-392, (1988).
- Lieberman, A., J. Ransohoff y P. Becrzelier. Adrenal medullary implantation in Parkinson's disease. Restorative Neurol. and Neuroscie. Vol. 1, No. 2: 218P (1990).
- Lindvall, O., E. O. Backlund, L. Farde, G. Sedvall, R. Freedman, B. Hoffeter, A. Nobin, A. Seigerland y L. Olson. Transplantation in Parkinson's Disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen. Ann. Neurol. Vol. 22:457-468, (1987).
- Lidvall, O., P. Brundin, H. Widner, S. Rehnroona, B. Gustavi, K. Frackowiak, K. L. Leenders, G. Sawle, J. C. Rothwell, C. D. Marsden y A. Bjorklund. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. Science. Vol. 247: 574-577, (1990).
- Lindvall, O. Prospects of trasplantation in human neurodegenerative disease. Trend in Neuroscience. Vol.14, No.8:376-384 (1991).
- Lindvall, O., y A. Bjorklund. Transplantation strategies in the treatment of Parkinson's disease: experimental basis and clinical trials. Acta Neurol. Scand. Vol. 126:197-210, (1989).

- Ljungberg, T. y U. Ungerstedt. Reinstatement of eating by dopamine agonists in aphagic dopamine denervated rats. Physiology and Behavior. Vol. 16:277-283, (1976).
- López-Lozano, J. J., G Bravo, J. Abascal y CPH neural transplantation group. Autoimplants of perfused adrenal medulla into Parkinson's patients: a 12 month follow-up study. Restorative. Neurol. and Neuroscien. Vol. 1, No.2 219P, (1990).
- Low, W. C. P. R. Kewis, S. T. Bunch, S. B. Dunnett, S. R. Thomas, S. D. Iversen, A. Bjorklund y U. Stenevi. Functional recovery following neural transplantation of embryonic septal nuclei in adult rats with septohippocampal lesions. Nature. Vol. 300:260-262, (1982).
- Lu, S. Y., M. Giordano, A. B. Norman, M. T. Shipley y P. R. Sanberg. Behavioral effects of the neural transplants into the intact striatum. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. Vol. 37:135-148, (1990).
- Lund, R. D., K. Rao, H. W. Kunnz y T. J. Gill III. Immunological considerations in neural transplantation. Transplantation Proceedings. Vol. 21, No.1:3159-31-62, (1989).
- Madrazo, I., R. Drucker-Colin, V. Diaz, J. Martinez-Mata, C. Torres y J. J. Becerril. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. N. England J. of Medicine Vol. 316:831-834, (1987).
- Madrazo, I., V. Leon, C. Torres, M. C. Aguilera, G. Varela, F. Alvarez, A. Fraga, R. Drucker-Colin, F. Ostrosky, M. Skurovich y R. Franco. Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to the caudate nucleus in two patients with Parkinson's disease. New England J. of Medicine. Vol. 318, No. 1:51, (1988).
- Mahalik, I. J., T. E. Finger, I. Stromberg y L. Olson. Substantia nigra transplants into denervated striatum of the rat: ultrastructure of graft and host interconecction. J. Comp. Neurology. Vol. 240:60-70, (1985).
- Manthorpe, M., M. Nieto-Sampedro, S. D. Skaper, E. R. Lewis, G. Barbin, F. M. Longo, C. W. Cotman y S. Varon. Neurotrophic activity in brain wounds of the developing rat. Correlation with implants survival in the wound cavity. Brain Res. Vol. 267:47-56, (1983).
- Marshall, J. F., J. S. Richardson y P. Teitelbaum. Nigrostriatal bundle damage and the lateral hypothalamic syndrome. J. of Comparative Physiol. Psycho. Vol. 87, No.5:808-830, (1974).

- Marshall, J.F., y U. Ungerstedt. Supersensitivity to apomorphine following destruction of the ascending dopamine neurons: quantification using the rotational model. European J. Phama. Vol. 41, No. 1:361-367, (1977).
- Marshall, J. F., R. Navarrete y J. N. Joyce. Decreased striatal D1 binding density following mesotelencephalic 6-hydroxydopamine injections: an autoradiographic analysis. Brain Res. Vol. 493:247-257, (1989).
- Martres, M. P., M. L. Bouthenet, N. Sales, P. Sokoloff, J. C. Schwartz. Widespread distribution of brain dopamine receptors. Evidence with [125-I]-Iodosulpride, a highly selective ligand. Science. Vol. 228:752-755, (1985).
- Mata, M., D. J. Fink, H. Gainer, C.B. Smith, L. Davidsen, H. Savaki, W. J. Schwartz y L. Sokoloff. Activity-dependent energy metabolism in rat posterior pituitary primarily reflects sodium pump activity. J. of Neurochem. Vol. 34: 213-215, (1980).
- Mendoza-Ramirez, J. L., R. Aguilar-Roblero, A. Zainos-Rosales y R. Drucker-Colin. Fetal substantia nigra and adrenal medullary grafts placed contralateral to the nigrostriatal lesion side induce a decrease in turning behavior but not in dopamine receptor density. Res. Neurol. and Neurosci. Vol. 3:177-185, (1991).
- Molina, H. Neurotransplantation in Parkinson's disease. The Cuban experience. Resto. Neurol. Neurosci. Vol. 1:164, (1990).
- Moore, R. Y. Methods for selective restricted lesion placement in the central nervous system. En: Neuroanatomical tract-tracing methods. L. Heimer y M. J. Robards (Eds). Plenum Press, 55-89, (1981).
- McCulloch, J., H. E. Savaki, M. C. McCulloch y L. Sokoloff. Specific distribution of metabolic alterations in cerebral cortex following apomorphine administration. Nature. Vol. 282:303-305, (1979).
- McCulloch, J., H. E. Savaki y L. Sokoloff. Influence of dopaminergic systems on the lateral habenula nucleus of the rat. Brain Res. Vol. 194:117-124, (1980).
- McCulloch, J., H. E. Savaki, M. C. McCulloch, J. Jehle y L. Sokoloff. The distribution of alteration in energy metabolism in the rat brain produced by apomorphine. Brain Res. Vol. 243:67-80, (1982).
- Nagy, J. I., D. A. Carter, y H. C. Fibiger. Anterior striatal projections to the globus pallidus, entopeduncular nucleus and substantia nigra in the rat: the GABA connection. Brain Res. Vol. 158:15-29, (1978).

- Nieto-Sampedro, M. M. Manthorpe, G. Barbin, S. Varon y C. W. Cotman. Injury-induced neurotrophic activity in adult rat brain. Correlation with survival of delayed implants in the wound cavity. J. of Neuroscience. Vol. 3, No. 11; 2219-2229, (1983).
- Nishino, H., J. Ono, J. Takahashi, M. Kimura, S. Shoisaka, H. Yamasaki, H. Hatanaka y M. Tohyama. The formation of new neuronal circuit between transplanted nigral dopamine neurons and non-immunoreactive axon terminals in the host rat caudate nucleus. Neuroscience Lett. Vol. 64:13-16, (1986a).
- Nishino, H. J. Ono, J. Takahashi, M. Kimura, S. Shoisaka y M. Tohyama. Transplants in the peri and intraventricular region grow better than those in the central parenchyma of the caudate. Neuroscience Lett. Vol. 64:184-190, (1986b).
- Olson, L. A. Seiger, B.J. Hoffer y B. J. Taylor. Isolated catecholaminergic projections from substantia nigra and locus coeruleus to caudate, hippocampus and cerebral cortex formed by introcular sequential double brain grafts. Exp. Brain Res. Vol. 35:47-67, (1979).
- Palacios, J, M. y A. Pazos. Visualization of dopamine receptors. A progress review. En: Dopamine Receptors. Alan R. Liss, 175-197, (1987).
- Pan, H. S., J. B. Penney y A. B. Young. Gamma-aminobutyric acid and benzodiazepine receptor changes induced by unilateral 6-hydroxidopamine lesions of the medial forebrain bundle. J. of Neurochemistry. Vol. 45, No. 5, 1396-1404, (1985).
- Pan, H. y J. R. Walters. Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decrease the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. Synapse. Vol. 2:650-656, (1988).
- Paxinos, G. y C. Watson. The rat brain in stereotaxic coordinates. Orlando, Academic Press, (1986).
- Paxinos, G., W. Staines, T. Hoekfelt, W. H. Oertel y L. Terenius. Enkephalin (EK), Dynorphin (Dyn), Substance P and Glutamic Decarboxylase (GAD) in striatal efferents. Soc. Neurosc. Abs. Vol. 10:516, (1984).
- Penn, R. D., C. G. Goetz, C. M. Tanner, G. T. Stebbins, D. W. Gilley, K. M. Shannon, H. L. Klawans, C. L. Comella y T. Witt. Adrenal medullary transplant to the striatum of patients with advanced Parkinson's disease: one year motor and psychometric data. Restorative Neurology and Neuroscience. Vol. 1, No. 2:216P, (1990).

- Perese, D. A., J. Ulman, J. Viola, S. E. Ewing y K. S. Bankiewicz. A 6-hydroxidopamine-induced selective parkinsonian rat model. Brain Res. Vol. 494:285-293, (1989).
- Perlow, M. J., W. J. Freed, B. J. Hoffer, A. Seiger, L. Olson, y R. J. Wyatt. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. Science. Vol. 204:643-647, (1979).
- Petruk, K. C. y A.F. Wilson. Treatment of refractory Parkinson's disease with adrenal medulla autografts utilizing two stage surgery. Restorative Neurology and Neuroscience Vol. 1, No.2: 223, (1990).
- Pezzoli, G., A. Zecchinelli, S. Ricciardi, R.E. Burke, S. Fahn, G. Scarlato y A. Carenzi. Intraventricular infusion of epidermal growth factor restore dopaminergic pathway in hemiparkinsonian rats. Movement Disorders Vol. 6, No. 4 281-287 (1991).
- Pezzoli, G., S. Fahn, A. Dwork, D.D. Truong, J. G. de Yebenes. V. Jackson-Lewis, J. Herbert y J.L. Caret. Non-chromaffin tissue plus nerve growth factor reduces experimental parkinsonism in aged rats. Brain Res. Vol. 454: 398-403, (1988).
- Pezzoli, G., E. Motti, C. Ferrante, A. Zecchinelli, V. Silani, D. Mulazzi, P. Baratta, A. Vageto, R. Villani, G. Scarlato. Adrenal medulla autograft in 3 Parkinsonian patients: results using two different approaches. Restorative Neurology and Neuroscience. Vol. 1, No. 2, 222p (1990)
- Plummer, A.J., A. Earl, J.A. Schneider, J. Trapold y W. Barret. Pharmacology of rauwolfia alkaloids, including reserpine. Annals of the New York Academy of Sciences Vol. 59: 8-21, (1954).
- Pycocck, C.J. Turning behavior in animals. Neuroscience Vol. 5: 461-514, (1980)
- Quinn, N.P., S.B. Dunnett y W. Oerter. Studies towards neural transplantation in Parkinson disease. In: Disorders of Movement: Clinical Pharmacological and Physiological Aspects 223-247, (1989).
- Ramm, P., J. H. Kulack, M.P. Stryker y B. J. Frost. Video and scanning microdensitometer-based image systems in autoradiographic densitometry. J. of Neuroscience Methods. Vol. 11: 89-100, (1984).
- Ramon y Cajal, S. Degeneration and Regeneration of the Nervous System. Oxford University Press. London. Pag. 750, (1928).

- Rioux, L. D. P. Gaudin, L. K. Bui, L. Gregoire, T. Di Paolo y P. J. Bedard. Correlation of functional recovery after a 6-hydroxydopamine lesion with survival of grafted fetal neurons and release of dopamine in the striatum of the rat. Neuroscience. Vol. 40, No. 1:123-131, (1991a).
- Rioux, L., D. P. Gaudin, C. Gagnon, T. Di Paolo y P. J. Bedard. Decrease of behavioral and biochemical denervation supersensitivity of rat striatum by nigral transplants. Neuroscience. Vol. 44, No.1:75-83 (1991b).
- Romo, R., A. Cheramy, M. Desban, G. Godeheu y J. Glowinski. GABA in the intralaminar thalamic nuclei modulates dopamine release from the two dopaminergic nigrostriatal pathways in the cat. Brian Res. Bull. Vol. 11:671-680, (1983).
- Rose, G., G. Gehardt, I. Stromberg, L. Olson y B. Hoffer. Mordamine release from dopamine-depleted rat caudate nucleus reinnervated by substantia nigra transplants: An in vivo electrochemicals study. Brain Res. Vol. 341: 92-100, (1985).
- Sagar, S.M. y R. Snodgrass. Effects of sustantia nigra lesions on forebrain 2-deoxy-glucose retention in the rat. Brain Res. Vol. 185: 335-348, (1980).
- Sanderson, P., R. Mavoungou y D. Albe-Fessard. Changes in substantia nigra pars reticulata activity following lesions of the substantia nigra compacta. Neurosci. Lett. Vol. 67:25-30, (1986).
- Savaki, H. E., M. Desban, J. Glowinski, y M. J. Benson. Local cerebral glucose consumption in the rat. II.- Effects of unilateral substantia nigra stimulation in conscious and halothane anaesthetized animals. J. Comp. Neurol. Vol.213:46-65, (1983).
- Scheel-Kruger, J. Dopamine-GABA interactions: Evidence that GABA transmits, modulates, and mediates dopaminergic functions in the basal ganglia and the limbic system. Acta Neurol. Scandinavica. No. 107, Vol. 73: 1-54, (1986).
- Schneider, J.S., S.G. Diamond y C. H. Markham. Parkinson's disease: Sensory and motor problems in arms and hands. Neurology Vol. 37, No. 6: 951-956, (1987).
- Schmidt, R.H., M. Ingvar, O. Lindvall, U. Stenevi y A. Bjorklund. Functional activity of sustantia nigra grafts reinnervating the striatum. Neurotransmitter metabolism and [14C]-2-deoxy-d-glucose autoradiography. J. of Neurochemistry Vol. 38, No. 2, 737-748, (1982).

- Schmidt, R.H., A. Bjorklund y V. Stenevi. Intracerebral grafting of dissociated CNS tissue suspensions: a new approach for neuronal transplantation to deep brain sites. Brain Res. Vol. 218: 347-356, (1981).
- Schultz, W. y U. Ungerstedt. Striatal cell supersensitivity to apomorphine in dopamine-lesioned rats correlated to behaviour. Neuropharmacology Vol. 17: 349-353, (1978).
- Schwartz, W.J., C.B. Smith, L. Davidsen, H. Sauaki, L. Sokoloff, M. Mata, D.J. Fink, Harold Gainer. Metabolic mapping of functional activity in the hypothalamo. Neurohypophysial system of the rat. Science Vol. 205: 723-725, (1979).
- Schwartz, W. J. A role for the dopaminergic nigrostriatal bundle in the pathogenesis of altered brain glucose consumption after lateral hypothalamic lesions. Evidence using the 14C-labeled deoxyglucose technique. Brain Res. Vol. 158:129-147, (1978).
- Seiger, A. Preparation of immature central nervous system regions for transplantation. En: Neural grafting in the mammalian CNS. A. Bjorklund y U. Stenevi (Eds.)Amsterdam, Elsevier Science Pub., 71-77, (1985).
- Segovia, J., R. Meloni y K. Gale. Effect of dopaminergic denervation and transplant-derived reinnervation on a marker of striatal gabaergic function. Brain Res. Vol. 493:185-189, (1989).
- Simonds, G. R. y W. J. Freed. Effects of intraventricular substantia nigra allografts as a function of donor age. Brain Res. Vol. 530:12-19, (1990).
- Sirinathsinghji, D. J. S. y S. B. Dunnett. Disappearance of the u-opiate receptor patches in the rat neostriatum following lesioning of the ipsilateral nigrostriatal dopamine pathway with 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+): restoration by embryonic nigral dopamine grafts. Brain Res. Vol. 504:115-120, (1989).
- Sirinathsinghji, D. J. S., S. B. Dunnett, O. Isacson, D. J. Clarke, K. Kendrick y A. Bjorklund. Striatal grafts in rats with unilateral neostriatal lesion. II.- In vivo monitoring of GABA release in globus pallidus and substantia nigra. Neuroscience. Vol.24, No. 3:803-811, (1988).
- Sladek, J. R. y I. Shoulson. Neural transplantation: a call for patience rather than for patients. Science. Vol. 240:1386-1388, (1988).

- Sloan, D. J., M. J. Wood y H. M. Charlton. The immune response to intracerebral neural grafts. Trends in Neuroscience. Vol. 14, No. 8:341-346, (1991).
- Sokoloff, L., M. Reivich, C. Kennedy, M. H. Desrosiers, C. S. Patlak, K. D. Pettigren, O. Sakurada y M. Shinohara. The [<sup>14</sup>C]-Deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rats. J. of Neurochemistry. Vol. 28: 897-916, (1977).
- Sokoloff, L. Measurement of local glucose utilization in the central nervous system and its relationship to local functional activity. En: Metabolism in the nervous system. Handbook of Neurochemistry. A. Lajtha (Ed). Plenum Press, 225-257, (1983).
- Sokoloff, L. Circulation and energy metabolism of the brain. En: Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. G. Siegel, B. Agranoff, R. W. Albers y P. Molinoff. New York, Raven Press, 565-590, (1989).
- Stenevi, U., A. Bjorklund y N. Svendgaard. Transplantation of central and peripheral monoamine neurons to the adult rat brain: techniques and conditions for survival. Brain Res. Vol. 114:1-20, (1976).
- Strecker, R. E., T. Sharp, P. Brundin, T. Zetterstrom, U. Ungerstedt y A. Bjorklund. Autoregulation of dopamine release and metabolism by intraestriatal nigral grafts as revealed by intracerebral dialysis. Neuroscience. Vol. 22, No.1:169-178, (1987).
- Stromberg, I., M. Herrera-Marschitz, U. Ungerstedt, E. T. Ebendal y L. Olson. Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum. Effects of NGF on graft survival fiber growth and rotational behavior. Experimental Brain Res. Vol. 60:335-349, (1985a).
- Stromberg, I., S. Johnson, B. Hoffer y L. Olson. Reinnervation of dopamine-denervated striatum by substantia nigra transplants: immunohistochemical and electrophysiological correlates. Neuroscience. Vol. 14, No.4:981-990, (1985b).
- Stromberg, I. C., C. Van Horne, M. Bygedeman, N. Weiner y G.A. Gerhardt. Function of intraventricular human mesencephalic xenografts in immunosuppressed rats: an electrophysiological and neurochemical analysis. Experimental Neurology. Vol. 112: 140-152, (1991).
- Tetrad, J. W. y W. Langston. The effect of deprenyl (selegiline) on the natural history of Parkinson's disease. Science. Vol. 245:519-522, (1989a).

- Tetrad, J. W. y J. W. Langston. MPTP-Induced parkinsonism as a model for Parkinson's disease. Acta Neurol. Scand. Vol. 126:35-40, (1989b).
- Trulsson, M. E. y A. Hosseini. Dopamine neurons transplants: electrophysiological unit activity of intrastriatal nigral grafts in freely moving cats. Life Sciences. Vol. 40:2097-2102, (1987).
- Ungerstedt, U. Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system. Acta Physiol. Scan. Supple. 367: 69-93, (1971).
- Ungerstedt, U. 6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons. Euro. J. Pharmacol. Vol. 5:107-110, (1968).
- Van Der Kooy, D., D. V. Coscina y T. Hattori. Is there a non-dopaminergic nigrostriatal pathway. Neuroscience. Vol. 6, No. 3:345-357, (1981).
- Van Horne, C., T. Mahalik, B. Hoffer, M. Bygdeman, P. Almqvist, P. Stieg, A. Selger, L. Olson y I. Stromberg. Behavioral and electrophysiological correlates of human mesencephalic dopaminergic xenografts function in the rat striatum. Brain Res. Bull. Vol. 25:325-334, (1990).
- Vincent, S. R., J. I. Nagy y H. C. Fibiger. Increased striatal glutamate decarboxylase after lesions of the nigrostriatal pathway. Brain Res. Vol. 143:168-173, (1978).
- Webster, W. R., J. Serviere y M. Brown. Inhibitory contours in the inferior colliculus as revealed by the 2-Deoxyglucose method. Exp. Brain Res. Vol. 56:577-581, (1984).
- Wooten, G. F. y R. C. Collins. Metabolic effects of the unilateral lesion of the substantia nigra. J. of Neuroscience. Vol. 1, No. 3:285-291, (1981).
- Wooten, G. F. y R. C. Collins. Effects of dopaminergic stimulation on functional brain metabolism in rats with unilateral substantia nigra lesions. Brain Res. Vol. 263:267-275, (1983).
- Wuerthele, S. M., W. J. Freed, L. Olson, J. Morihisa, L. Spoor, R. J. Wyatt y B. J. Hoffer. Effect of dopamine agonists and antagonists on the electrical activity of substantia nigra neurons transplanted into the lateral ventricle of the rat. Exp. Brain Res. Vol. 44:1-10, (1981).

- Yarowky, P., M. Kadekaro y L. Sokoloff. Frequency-dependent activation of glucose utilization in the superior cervical ganglion by electrical stimulation of cervical sympathetic trunk. Proc. Nac. Aca. Scien. Vol. 80:4179-41-83, (1983).
- Zetterstrom, T., P. Brundin, F. H. Gage, T. Sharp, O. Isacson, S. B. Dunnett, U. Ungerstedt y A. Bjorklund. In vivo measurement of spontaneous release and metabolism of dopamine from intrastriatal nigral grafts using intracerebral dialysis. Brain Res. Vol. 362:344-349, (1986).
- Ziegler, M. y H. Szechtman. Differences in the behavioral profile of circling under amphetamine and apomorphine in rats with unilateral lesions of the substantia nigra. Behavioral Neuroscience. Vol. 102, No. 2:276-288, (1988).
- Zigmond, M. J., J. W. Berger, A. Grace y E. M. Stricker. Compensatory responses to nigrostriatal bundle injury. Molecular and Chemical Neuropathology Vol. 10:185-200, (1989).

ESTA TESIS ESTA DEDICADA A TI LECTOR, QUE HAS SIDO CAPAZ DE RESCATAR DEL OLVIDO ESTE TRABAJO; SI EN EL ENCUENTRAS INFORMACION QUE TE SIRVA, ME SENTIRE CONTENTO DE HABERTE AYUDADO.

EL AUTOR.